

Aus der Klinik und Poliklinik
für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. M. E. Wigand

**ELEKTROLYTBESTIMMUNG
IM MENSCHLICHEN SPEICHEL
MITTELS IONENSELEKTIVER
FLÜSSIGMEMBRANELEKTRODEN**

Aufbau und Erprobung einer mikroprozessorgestützten
Apparatur zur kontinuierlichen in-vivo Messung

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Elisabet Hirschmann
aus Altdorf

1984



Aus der Klinik und Poliklinik
für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. M. E. Wigand

ELEKTROLYTBESTIMMUNG IM MENSCHLICHEN SPEICHEL MITTELS IONENSELEKTIVER FLÜSSIGMEMBRANELEKTRODEN

Aufbau und Erprobung einer mikroprozessorgestützten
Apparatur zur kontinuierlichen in-vivo Messung

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Elisabet Hirschmann
aus Altdorf

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät

der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Prof. Dr. med. M. E. Wigand

Tag der mündlichen Prüfung: 2.1.1984

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. ALLGEMEINES ZUR SPEICHELCHEMIE	3
2.1 Physiologie der Speichelsekretion	3
2.2 Pathophysiologie der Speichelsekretion	7
2.2.1 Einfluß von Erkrankungen der Speicheldrüsen auf die Speichelelektrolyte	7
2.2.1.1 Sialadenitis	7
2.2.1.2 Sjögren-Syndrom	7
2.2.1.3 Sialolithiasis	8
2.2.1.4 Sialadenose	8
2.2.1.5 Pleomorphes Adenom	9
2.2.2.1 Hormonelle Veränderungen	9
2.2.2.2 Veränderungen bei Niereninsuffizienz (nach Kreusser et al.)	10
2.2.2.3 Labyrinthopathien	11
2.2.2.4 Störungen der Innervation (nach Bumm et al.)	11
2.2.2.5 Screening für Mukoviszidose	11
3. MATERIAL UND METHODE	13
3.1 Aufbau der Apparatur	13
3.1.1 Meßanordnung	13
3.1.2 Software	19
3.2 Funktionsprinzip der ionenselektiven Elektroden	24
3.2.1 Potentialentstehung	24
3.2.2 Potentialberechnung	29

4.	DAS ARBEITEN MIT DER APPARATUR	32
4.1	Erprobung und Kalibrierung	32
4.1.1	Erster Versuch zur Festlegung einer Eichgeraden	32
4.1.2	Erprobung mit monoionalen Elektrolytlösungen	34
4.1.3	Bestimmung der Eichenebene	34
4.1.4	Zeitliche Drift	41
4.1.5	Temperaturdrift	42
4.1.6	Messung von proteinhaltigen Lösungen	44
4.1.7	Speichel als Meßlösung	44
4.2	Erste Erfahrungen und Ergebnisse	45
4.2.1	Erprobung der kontinuierlichen in-vivo-Messung	45
4.2.2	Elektrolytbestimmung im Submandibularisspeichel	47
4.2.3	Elektrolytbestimmung im Parotisspeichel	50
5.	DISKUSSION	55
6.	ZUSAMMENFASSUNG	64
7.	LITERATURVERZEICHNIS	65

1. EINLEITUNG

"Für den Kliniker haben die Speicheldrüsen als Reaktionsorgan bei Allgemeinerkrankungen, als Ausscheidungsorgan und als Ausgangsort pathologischer Erkrankungen Bedeutung gewonnen (Brands)."
Deshalb werden speichelanalytische Daten in zunehmenden Maße nicht nur bei Erkrankungen im HNO-Bereich, sondern auch in der Inneren Medizin als diagnostische Kriterien herangezogen.

Bislang erfordert die Bestimmung von Speichel-elektrolytwerten einen Aufwand, der, gemessen an der Aussagekraft, relativ hoch erscheint. So werden in der Klinik Metallkonzentrationen im Speichel im Absorptionsspektralphotometer durch Vergleich mit Eichlösungen bestimmt. Dafür müssen die Speichelproben fraktioniert aufgefangen, zentrifugiert und alle einzeln analysiert werden. Durch den Einsatz von ionenselektiven Elektroden muß es möglich sein, in-vivo, ohne zeitraubende Probenvorbereitung zu messen.

"Konkurrenzlos sind diese neuen analytischen Sensoren, wenn kontinuierliche Durchflußmessungen verlangt werden (Camman)."

In dieser Arbeit soll ein Meßsystem vorgestellt werden, das kontinuierliche in-vivo Messungen von Elektrolyten erlaubt und erste Ergebnisse umgehend liefert. Das Kernstück der Apparatur, die ionenselektive Flüssigmembranelektrode, findet bereits breite Anwendung in Industrie und Umweltforschung, da das Prinzip der ionenselektiven Elektrode für eine Vielzahl von Ionen anwendbar ist.



Die Apparatur besteht aus zwei Speicheldurchflußkammern mit je drei Elektroden zur Messung von Natrium, Kalium und Calcium. Die Steuerung der Messung, Protokollierung der Meßdaten und Umrechnungen derselben auf Ionenkonzentrationen übernimmt ein Mikroprozessor.

Durch diese Vereinfachung der Methode wird es möglich sein, Untersuchungen größeren Stils durchzuführen und damit die Forschungen auf diesem Gebiet voranzubringen.

2. ALLGEMEINES ZUR SPEICHELCHEMIE

2.1 Physiologie der Speichelsekretion

Die Bildung des Speichels erfolgt nach einer weitgehend gesicherten Hypothese in zwei Phasen.

In der ersten Phase sezernieren die Drüsenendstücke ein dem Blutplasma ähnliches Primärsekret. In der zweiten Phase, während der Passage durch das Gangsystem, erfolgt durch aktive Resorption und Sekretion eine Einstellung der Ionenkonzentrationen.

"Für die quantitative Erfassung der einzelnen Funktionsschritte wurde ein mathematisches Modell entwickelt, für das angenommen wurde, daß die Drüsengänge aktiv Natrium resorbieren und daß Natriumionen über eine passive Leckpermeabilität ins Lumen zurückfließen (Knauf/Frömter)."

Deshalb sollten Aussagen über Elektrolytkonzentrationen im Speichel immer im Zusammenhang mit der Flußrate gesehen werden (Taysen/Knauf), denn die Dauer des Aufenthaltes im Gangsystem bestimmt die Dauer der Einwirkung der Sekretions- und Resorptionsvorgänge.

Der Sekretionsapparat der Speicheldrüsen besteht aus den Acini, die den Speichel produzieren. Die Acini sind in ihrer Funktion mit den Glomerula der Niere zu vergleichen. Die Schaltstücke und Streifenstücke haben vorwiegend eine Resorptions-, bei großem Speichelbedarf auch eine Sekretionsfunktion. In diesen Abschnitten der Speicheldrüsen werden die Elektrolyte sozusagen ausblanciert. In ihrer Funktion sind sie völlig identisch mit den Tubuli der Nieren (Bland/Truniger).

Die Speichelsekretion ist ein sehr komplexes Geschehen, das von vielen Faktoren beeinflusst und über das neurovegetative Nervensystem gesteuert wird (Brands).

Die parasymphatische Innervation der Glandula parotis nimmt ihren Ursprung im Nucleus salivatorius inferior in der Rautengrube, läuft dann mit dem Nervus glosso-pharyngicus zum Ganglion petrosum, weiter mit dem Nervus tympanicus zum Ganglion oticum und schließlich mit dem Nervus auriculotemporalis zur Glandula parotis.

Die parasymphatische Innervation der Glandula submandibularis erfolgt durch Fasern aus dem Nucleus salivatorius superior, die mit der Chorda tympani zum Ganglion submandibulare gelangen.

Die sympathische Innervation nimmt ihren Ursprung im Nucleus intermedius lateralis des Rückenmarkes im Segment C8 - Th1, die Umschaltung erfolgt im Ganglion cervicale superius. Die sympathischen Nervenfasern gelangen entlang der großen Halsgefäße zu den entsprechenden Kopfspeicheldrüsen (Münzel).

Dabei erhalten die Acinuszellen eine zweifache Innervation von sympathischen und parasymphatischen Nervenfasern, während die Zellen des Gangsystems nur parasymphatische Fasern erhalten.

"Die Sekretion einer hypotonen Elektrolytflüssigkeit wird ... durch drei Effekte verursacht, die offensichtlich simultan auf eine parasymphatische Stimulierung hin eintreten. Erstens kommt es zu einem Anstieg des hydrostatischen Druckes infolge einer Gefäßerweiterung über die parasymphatischen Fasern. Zweitens tritt eine Veränderung der Proteinmatrix der Zellmembran auf, die durch Acetylcholin gesteuert wird und zur Vergrößerung der wassergefüllten Poren führt.

Drittens kommt es zu erhöhtem Transport von Natrium aus der Zelle und von Kalium in die Zelle, was auf eine erhöhte Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase Pumpe an der interstitiellen Zellmembran zurückgeführt wird (Münzel)."

"Der Speichelfluß bei sympathischer Innervation wird aber nicht nur mit einer Erregung der sekretorischen Nervenfasern erklärt, sondern auch mit einer Aktivierung der kontraktilen myoepithelialen Elemente. Andererseits führen sympathische Fasern bei ihrer Erregung zur Vasokonstriktion, die wiederum einen hemmenden Einfluß auf die Sekretion hat (Münzel)."

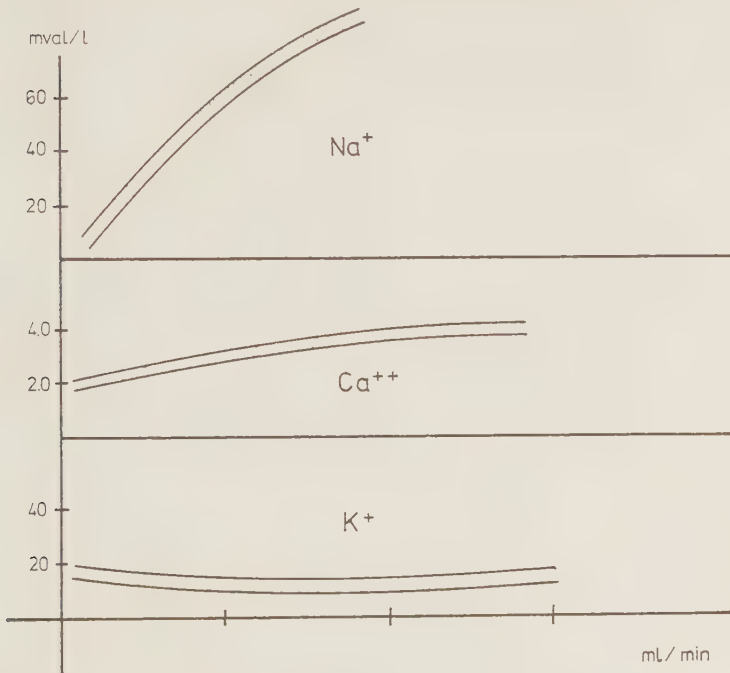


Abb. 1: "Flußratenbezogene Konzentration mono- und bivalenter Ionen im Parotisspeichel von Normalpersonen (nach Kreusser et al.)"

Die Sekrete der einzelnen Speicheldrüsen sind unterschiedlich.

Während die Glandula parotis des Menschen ausschließlich seröse Endstücke besitzt, hat die Glandula submandibularis sowohl seröse als auch muköse Endstücke, wobei die serösen überwiegen.

Unter Ruhebedingungen sind zwar die Flußraten der Glandula submandibularis meist höher als die der Glandula parotis, jedoch ist der durch Stimulation zu erzielende Effekt an der Glandula submandibularis geringer als an der Ohrspeicheldrüse (Münzel).

Parotisspeichel weist eine höhere Natrium- und Kaliumkonzentration auf. Submandibularisspeichel hat nach Ergebnissen von Münzel eine höhere Calciumkonzentration. Veröffentlichungen von Brands zufolge ist die Kalium- und die Calciumkonzentration des Parotisspeichels höher als die des Submandibularisspeichels und die Natriumkonzentration niedriger. Wobei sich die jeweiligen Absolutwerte der Natriumkonzentration sehr deutlich unterscheiden. Möglicherweise liegt der gravierende Unterschied der Natriumkonzentration an den verschiedenen Methoden. Nach Brands soll die Speichergewinnung in völliger Ruhe erfolgen, während Münzel eine relative Konstanz der zu messenden Elektrolytwerte erst bei einer bestimmten vorgegebenen Flußrate nach entsprechender Stimulation erwartet.

2.2 Pathophysiologie der Speichelsekretion

2.2.1 Einfluß von Erkrankungen der Speicheldrüsen auf die Speichelelektrolyte

2.2.1.1 Sialadenitis

Das Absinken der Flußrate und Elektrolytverschiebungen sind bei einer Sialadenitis wesentlich früher festzustellen als röntgenologische Veränderungen im Sialogramm. So zeigt sich bei einer Parotis epidemica eine Erhöhung der Natrium-, der Chlorid- und der Kaliumkonzentration, während die Amylaseaktivität absinkt. Die Bestimmungen der Flußrate und der Elektrolytkonzentrationen eignen sich zur Verlaufsbeobachtung einer Entzündung, da ein Anstieg der Flußrate und die Normalisierung der Elektrolytwerte ein Abklingen anzeigen.

2.2.1.2 Sjögren-Syndrom

Beim Sjögren-Syndrom sind die Elektrolytverschiebungen noch deutlicher ausgeprägt als bei banalen entzündlichen Veränderungen. Die Natriumkonzentration, wie auch die Chloridkonzentration liegen oft um ein mehrfaches höher als die Normalwerte und können fast Plasmawerte erreichen (Münzel). Einen Abfall der Natriumkonzentration beim Sjögren-Syndrom fanden Wigand und Mitarbeiter. Die Kaliumkonzentrationen lagen meist mehrfach höher als bei Normalpatienten, in manchen Fällen auch darunter. In allen Fällen zeigte sich eine deutliche Erhöhung der Calciumwerte, was auf eine schwere Störung der Calciumrückresorption durch das Epithel der Ausführungsgänge hinweist. Diese Störungen des Elektrolyttransportes lassen aber bisher keine Abgrenzung zwischen echtem Sjögren und der chronischen Parotitis mit nur symptomatischem Sjögren-Bild zu (Wigand).

2.2.1.3 Sialolithiasis

Die Sialolithiasis ist meist eine Erkrankung der Glandula submandibularis. Als Ursachen werden Veränderungen des Mucinanteils des Sekretes diskutiert. Außerdem soll eine Veränderung des Calcium-Phosphat-Quotienten eine Rolle spielen. Speichelchemische Untersuchungen beim Vorliegen oder kurz nach dem Entfernen eines Speichelsteines können aber nur in Ausnahmefällen klinisch verwertet werden, da bei Bestehen einer Sialolithiasis praktisch immer entzündliche Veränderungen vorhanden sind, die wiederum die Sekretion deutlich verändern.

2.2.1.4 Sialadenose

Die Sialadenose, eine meist schmerzlose, rezidivierende Schwellung der Speicheldrüse, besonders der Glandula parotis, ist eine nichtentzündliche, parenchymatöse Speicheldrüsenerkrankung aufgrund von Stoffwechsel- und Sekretionsstörungen. Zu Beginn der Erkrankung sind die Flußraten normal, nehmen aber im weiteren Verlauf ab. Es kommt zu regressiven Veränderungen, die das Bild einer chronischen Entzündung, mit Veränderung der Sekretionsrate, Erhöhung von Natrium- und Chloridkonzentration, entstehen lassen (Proescher). Durch die gestörte Membranfunktion der Acinuszelle erfolgt ein vermehrter Übertritt von Kalium aus dem Intrazellulär-raum in den extrazellulären Raum, was zu einer Erhöhung der Kaliumkonzentration bis zu 59 mval/l führen kann (Rauch). Die Ursache dieser Dysregulation des Drüsenparenchyms vermutet Proescher im autonomen Nervensystem. Zur weiteren Klärung sind seiner Meinung nach noch größere klinische Untersuchungen nötig.

2.2.1.5 Pleomorphes Adenom

Speicheldrüsentumoren, speziell das pleomorphe Adenom der Glandula parotis, führen zu einem Absinken der Flußrate in Ruhe und zu einem verzögertem Anstieg der Flußrate nach Reizung mit Pilocarpin. Über eine Änderung der Elektrolytkonzentrationen finden sich in der Literatur verschiedene Aussagen. Brands beschreibt einen Anstieg der Natrium- und Chloridkonzentrationen, während Münzel von einem Abfall dieser beiden Elektrolytkonzentrationen berichtet. Nach seiner Meinung kommen die Unterschiede durch die verschiedenen Techniken der Speichelsammlung zustande. Weiterhin spielen eine Rolle, ob bei Tumoren entzündliche Veränderungen im Drüsengewebe zusätzlich vorliegen.

2.2.2.2 Veränderungen im Organsimus, die sich auch auf die Elektrolytkonzentrationen der Speicheldrüsensekrete auswirken

2.2.2.1 Hormonelle Veränderungen

Während der Schwangerschaft sind die Flußraten und die Kaliumkonzentration erhöht, die Natriumkonzentration ist geringfügig vermindert, und zwar sowohl im Sekret der Glandula parotis als auch der Glandula submandibularis (Münzel). Als Ursache wird der veränderte Hormonhaushalt diskutiert.

Einen starken Einfluß auf die Elektrolytkonzentration im Speichel hat das Aldosteron. Wichtigstes Wirkungsmerkmal ist die Senkung des Natrium-Kalium-Quotienten über den gesamten Flußratenbereich (Münzel). Dieser kommt zustande durch eine vermehrte Rückresorption des Natrium im Gangsystem und eine erhöhte Sekretion des Kaliums.

Dasselbe Geschehen findet auch an der Niere statt, aber durch gegenregulatorische Maßnahmen läßt sich der Hyperaldosteronismus im Urin nicht immer nachweisen. Da diese Gegenregulation an den großen Mundspeicheldrüsen nicht manifest wird, ist zur Erkennung von Aldosteronstörungen die speichelchemische Diagnostik der Harnuntersuchung bislang überlegen (Kreusser et al.). Veränderungen des Aldosteronspiegels und damit veränderte Elektrolytkonzentrationen im Speichel konnten im Zusammenhang mit Hypertonie, Conn-Syndrom, Bartter- und Pseudo-Bartter-Syndrom von Kreusser et al. festgestellt werden.

2.2.2.2 Veränderungen bei Niereninsuffizienz (nach Kreusser et al.)

Das Bild einer terminalen Niereninsuffizienz kann durch einen Hyperaldosteronismus bestimmt werden. Es resultieren niedrige Natriumkonzentrationen im Parotispeichel. Bei derselben Krankheit kann es aber auch zu einem Anstieg der Natriumkonzentration kommen. Die Ursache hierfür liegt in der Veränderung des Transportes; es soll ein Transportinhibitor auftreten, der aus urämischen Stoffwechselprodukten entsteht. Dieser Inhibitor wirkt sowohl an der Niere, wie auch an den Speicheldrüsen. Außerdem soll er die Elektrolyttransporte im Innenohr im gleichen Sinne beeinflussen. Aufgrund der funktionellen Gleichheit der Membranen im Innenohr, an der Niere und den Speicheldrüsen läßt sich durch die Überprüfung der Elektrolyte eines dieser Systeme eine Störung der allgemeinen Transportkinetik erkennen.

2.2.2.3 Labyrinthopathien

Speichelchemische Untersuchungen bei Labyrinthopathien, wie Morbus Menière oder akutem Hörsturz, ergeben einen gestörten Sekretionsablauf der Glandula parotis im Vergleich mit der gesunden Seite. Die Ergebnisse der speichelchemischen Untersuchungen spiegeln eine sympathikotone Reaktionslage wieder. So konnte bei akutem Hörsturz eine Verminderung der Natriumkonzentration und eine geringgradige Erhöhung der Kaliumkonzentration festgestellt werden (nach Grandel, Peuker).

2.2.2.4 Störungen der Innervation

(nach Bumm et al.)

Schäden im Verlauf des Nervus Facialis und des Nervus Glossopharyngicus oder der sympathischen bzw. der parasympathischen Kerngebiete können zu einer Beeinträchtigung der Innervation der Speicheldrüsen führen. Aus einer Facialisparese resultieren Sekretionsstörungen der homolateralen Glandula submandibularis, was zu einer Erniedrigung der Flußrate führt. Manche Autoren benützen den Grad der Flußratenreduktion für ihr therapeutisches Vorgehen und die Prognose von Facialis- paresen (May).

2.2.2.5 Screening für Mukoviszidose

Speichelchemische Analysen zwischen dem 4. Lebensmonat und dem 5. Lebensjahr lassen sich als Screeninguntersuchung für Mukoviszidose verwenden (Bender).

Natriumkonzentrationen über 15 mval/l im Parotissekret liefern Hinweise auf eine zystische Fibrose. Die Bestätigung dieses Befundes kann mittels Iontophorese geliefert werden. Als Screeningtest ist die Iontophorese zu aufwendig.

Dieser kurze Abriß speichelchemischer Forschungsergebnisse läßt erkennen, daß die Elektrolytkonzentrationen im Speichel in Abhängigkeit von der Flußrate klinisch relevante Parameter sind, die als diagnostische Kriterien zu Rate gezogen werden können. Bislang war das nur schwerlich möglich, da die Bestimmung im Vergleich zur Aussagekraft zu aufwendig war.

Diese Arbeit soll nun einen apparativen Aufbau zeigen, der die Elektrolytkonzentrationen im Speichel in kürzester Zeit anzeigt, ohne vorherige Probenvorbereitung.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. Aufbau der Apparatur

3.1.1 Meßanordnung

Die von uns verwendeten Elektrodenblöcke sind von der Firma Fresenius nach Entwicklungen von Simon und Schindler hergestellt.

"Die ionenselektive Flüssigmembranelektrode ist ein elektroanalytischer Sensor, welcher aus einer ionenselektiven PVC-Matrix mit einem Carriermolekül als aktiver Komponente in einer optimierten Weichmacherkombination besteht." "Die Potentialableitung erfolgt über einen acrylglasummantelten Pt-Stirnflächenkontakt (Schindler et al.)."

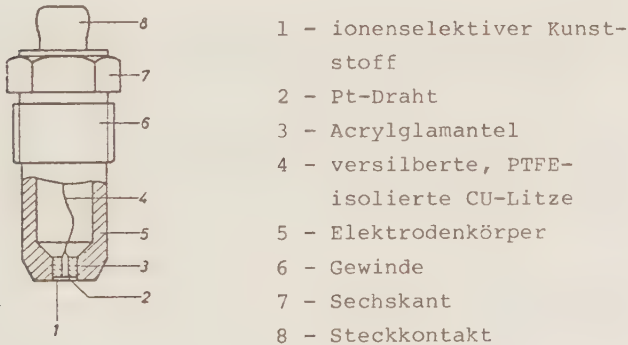


Abb.2: Ionenselektive Elektrode (nach Schindler)

An der Phasengrenze zwischen lipophilem, ionenselektivem Kunststoff und hydrophiler Meßlösung bildet sich eine Potentialdifferenz. Zur Messung dieser Potentialdifferenz ist eine Bezugselektrode notwendig, die ein konstantes Potential liefert.

Wir verwendeten eine Ag/AgCl-Bezugselektrode. Der auswechselbare Stromschlüsselkontaktstecker, gefüllt mit 3M KCL-Lösung als Bezugselektrolyt, stellt über einen mikrogekerbten PTFE-Stopfen eine Kontaktzone zur Meßlösung her.

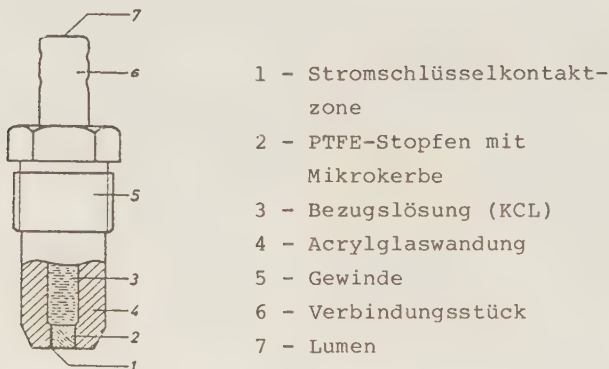


Abb. 3: Stromschlüsselkontaktstecker (nach Schindler)

Bei unserem Dreifachmeßsystem sind die Sensoren entsprechend ihrer Einstellzeiten in der Reihenfolge natriumselektive, kaliumselektive und calciumselektive Elektrode in einem Acrylglasdurchflußblock eingebracht. Am Ende des Durchflußsystems ist mittels Gewinde auswechselbar der Stromschlüsselkontaktstecker befestigt. Der Boden des Durchflußsystems ist gewellt, um zu verhindern, daß sich Luftblasen an den Elektroden festsetzen.

Dieses Durchflußsystem steht zur elektrischen Abschirmung in einem Metallgehäuse.

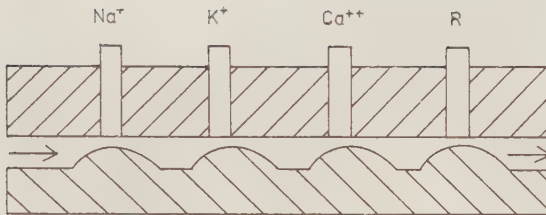


Abb. 4: Das strömungsoptimierte Multimeßsystem mit natrium-, kalium- und calciumselektiven Flüssigmembranelektroden und Ag/AgCl-Referenzelektrode (R) im Längsschnitt (schematisch) (Schindler)

Der zuführende Silikonschlauch wird auf zu Kanülen ausgezogenen Polyäthylenschläuchen, deren Spitze im Ausführungsgang der Speicheldrüse zum Liegen kommt, aufgesteckt. Die Probleme der Kanülierung und die Herstellung der Kanülen sind in den Arbeiten von Peuker und Grandel ausführlich erläutert.

Der abführende Schlauch endet in Enzymtestpipetten, in denen das abfließende Sekret aufgefangen und abgemessen wird.

Durch einen Dreiwegehahn kann die Abflußbahn auch über eine Pumpe gelenkt werden.

Jeweils ein solches Meßsystem steht in Kinnhöhe zu beiden Seiten des Patienten auf einem "kragenförmigen" Tisch, damit die zuführenden Schlauchleitungen zu den Elektrodenblöcken möglichst kurz gehalten werden können. Der Patient sitzt dabei in einem höhenverstellbaren Stuhl mit beweglicher Nackenstütze.

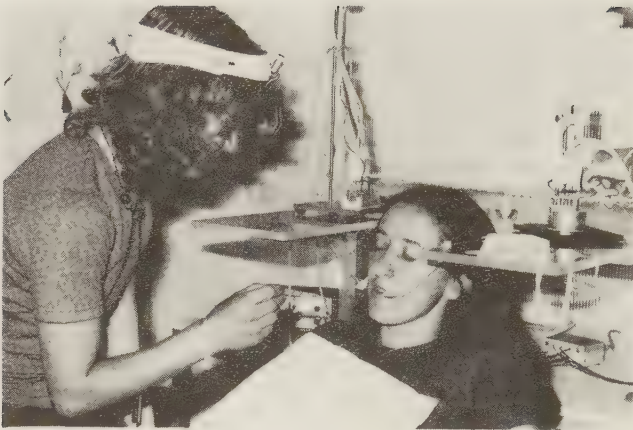


Abb. 5: Bild einer Messung

Zur Signalauswertung sind Spannungsfolger notwendig, die zur Ausschaltung der Kabelkapazität direkt am Elektrodenkopf aufgesteckt und verschraubt sind. Diese hochohmigen Impedanzwandler (10^{15} Ohm) geben die Spannung an sechs 10-fach Filterverstärker weiter, ohne die Elektroden zu belasten.

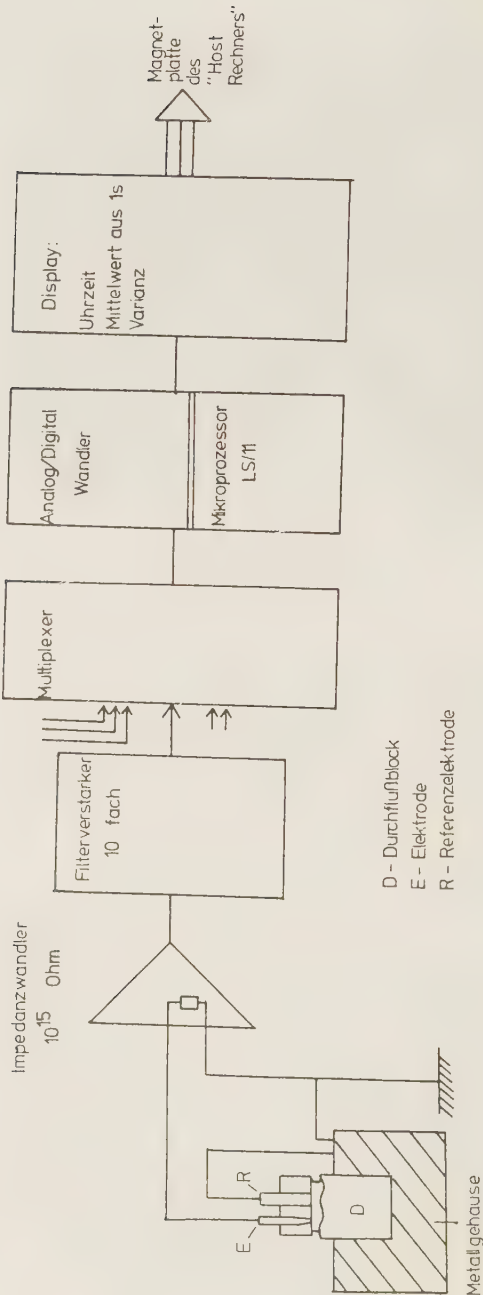
Der Gleichspannungsverstärker filtert Frequenzen ab 1,5 Hz heraus, womit insbesondere Netzbrumm völlig eliminiert werden kann.

Das verstärkte und gefilterte Potential wird weitergeleitet an sechs Eingänge eines 8-Kanal Multiplexers, der über einen Analog Digital Converter die Daten einem Mikroprozessor PDP 11/03 zuführt. Dieser Mikroprozessor übernimmt die Meßwertablesung, Protokollierung und Meßwertdarstellung auf einem Bildschirm.

Durch eine direkte Leitung gewinnt der Mikroprozessor Anschluß an die im elektrophysiologischen Labor stationierte Anlage PDP 11/34, wo die Daten auf Magnetplatte gespeichert werden.

Während der Messung stehen bereits laufend vorläufig berechnete Konzentrationswerte über einen Bildschirm zu Kontrollzwecken zur Verfügung.

Nach Abschluß können "off line" auch Drift der Elektroden- und Stromschlüsselparameter in ihrem Einfluß auf die Messung durch Korrekturprogramme eliminiert werden. Dabei kann die zum Teil unvollkommene Selektivität der Elektroden gegeneinander aufgerechnet und damit eliminiert werden.



Es ist der Übersicht halber nur eine von sechs Elektroden gezeichnet.

Abb. 6: Schema der Versuchsanordnung

3.1.2 Software

Die Kontrolle und Registrierung der Messung übernimmt der Mikroprozessor. Das Programm, das die Messungen steuert, besteht im wesentlichen aus zwei Blöcken: Der Eichroutine und der Meßroutine. Vor diesen ist noch die Eingabe von Filenamen - zur Kennzeichnung der Messung in der Datei - und Patientendaten erforderlich. Die Programme arbeiten im Dialog mit dem Untersucher, sie fordern Daten an und zeigen die gemessenen Potentiale mit der Varianz an. Außerdem werden auch vorläufig berechnete Steilheiten und Konzentrationen ausgedruckt (Abb.7).

Eichroutine (siehe Abb. 8)

Der Programmfluß der Eichroutine beginnt mit der Frage nach den Konzentrationen der Eichlösungen. Nach der Eingabe dieser Daten und der Kontrolle ihrer Richtigkeit erfolgt die Aufforderung, die Eichlösung 1 in das System zu füllen und die Messung der Eichlösung zu starten. Diese Messung ist nach einer Minute beendet und nun fordert das Programm den Untersucher auf, die Eichlösung 2 in das System zu füllen und danach die Messung freizugeben. Nach Beendigung dieser Eichmessung berechnet der Mikroprozessor die vorläufigen Steilheiten und holt sich die Elektrodenparameter (siehe S. 39) aus der Datei zur Überprüfung und eventueller Kontrolle der Eichwerte.

Nach Ablauf der Eichroutine kann die Messung erfolgen. Das muß aber nicht sofort geschehen, sondern das Programm wartet nach der Eichung so lange, bis die Messungsvorbereitungen abgeschlossen sind. War das Ergebnis der Eichung nicht befriedigend, so kann erneut eine Eichung vorgenommen werden.

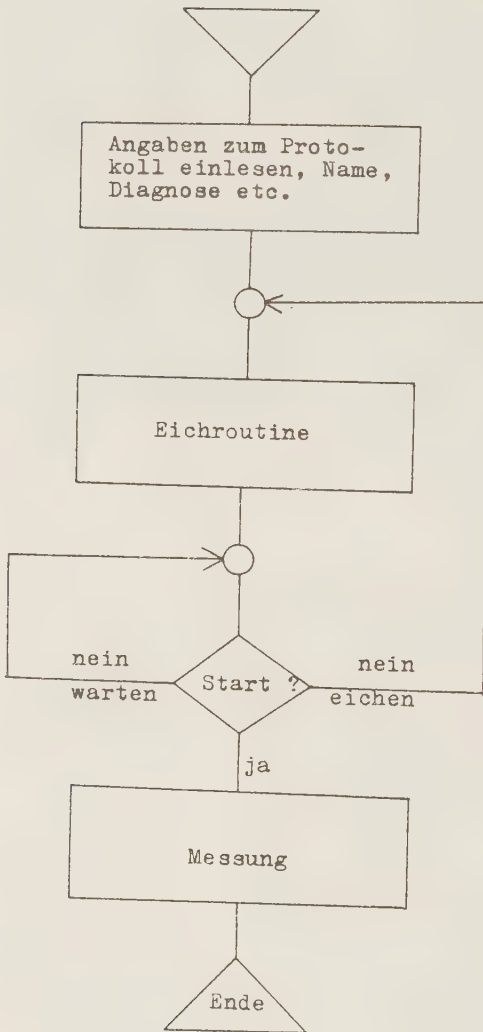


Abb. 7: Flußdiagramm des Protokollierprogramms

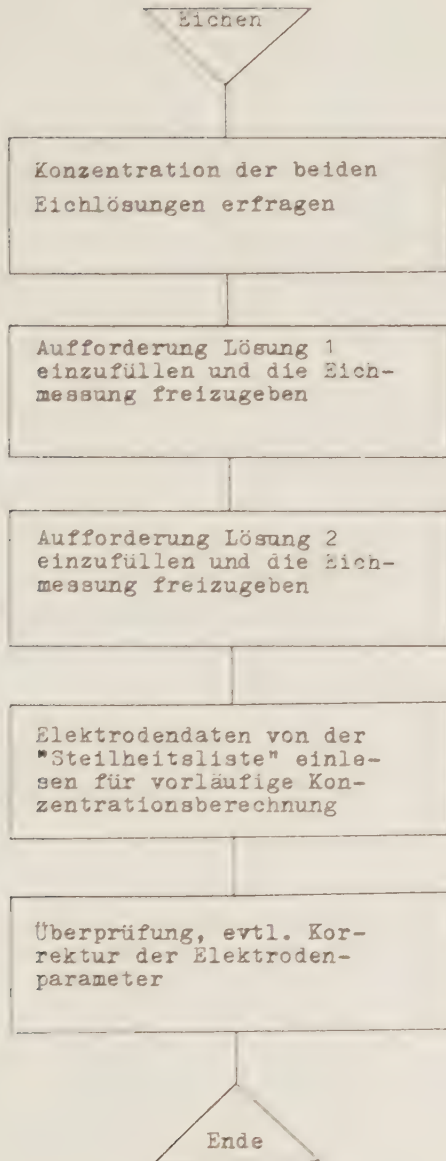


Abb. 8: Programmfluß "Eich"

Meßroutine (siehe Abb. 9):

Das eigenliche Meßprogramm beginnt mit dem Start einer im Rechner simulierten Stoppuhr. Der nächste Punkt fragt ab, ob der Untersucher die Messung anhalten will oder nicht. Soll gemessen werden, so werden alle sechs Spannungen der sechs Elektroden abgelesen und als Zeiger auf dem Bildschirm dargestellt. Damit ist eine visuelle Kontrolle aller sechs Elektroden gewährleistet.

Dieser Vorgang wiederholt sich ständig mit hoher Geschwindigkeit (128 Messungen/Sek.). Sind auf der "Stoppuhr" 29 Sekunden abgelaufen, so werden die nächsten 128 Meßwerte (= 1 Sekunde) aufgemittelt und als Mittelwert und Varianz neben der Uhrzeit in eine auf der Magnetplatte der PDP 11/34 geführten Protokollliste eingetragen. Dann wird die "Stoppuhr" zurückgesetzt und es folgen wieder 29 Sekunden zur visuellen Kontrolle.

Der Meßvorgang kann jederzeit unterbrochen, abgebrochen oder mit einer Schlußbeichung regulär abgeschlossen werden.

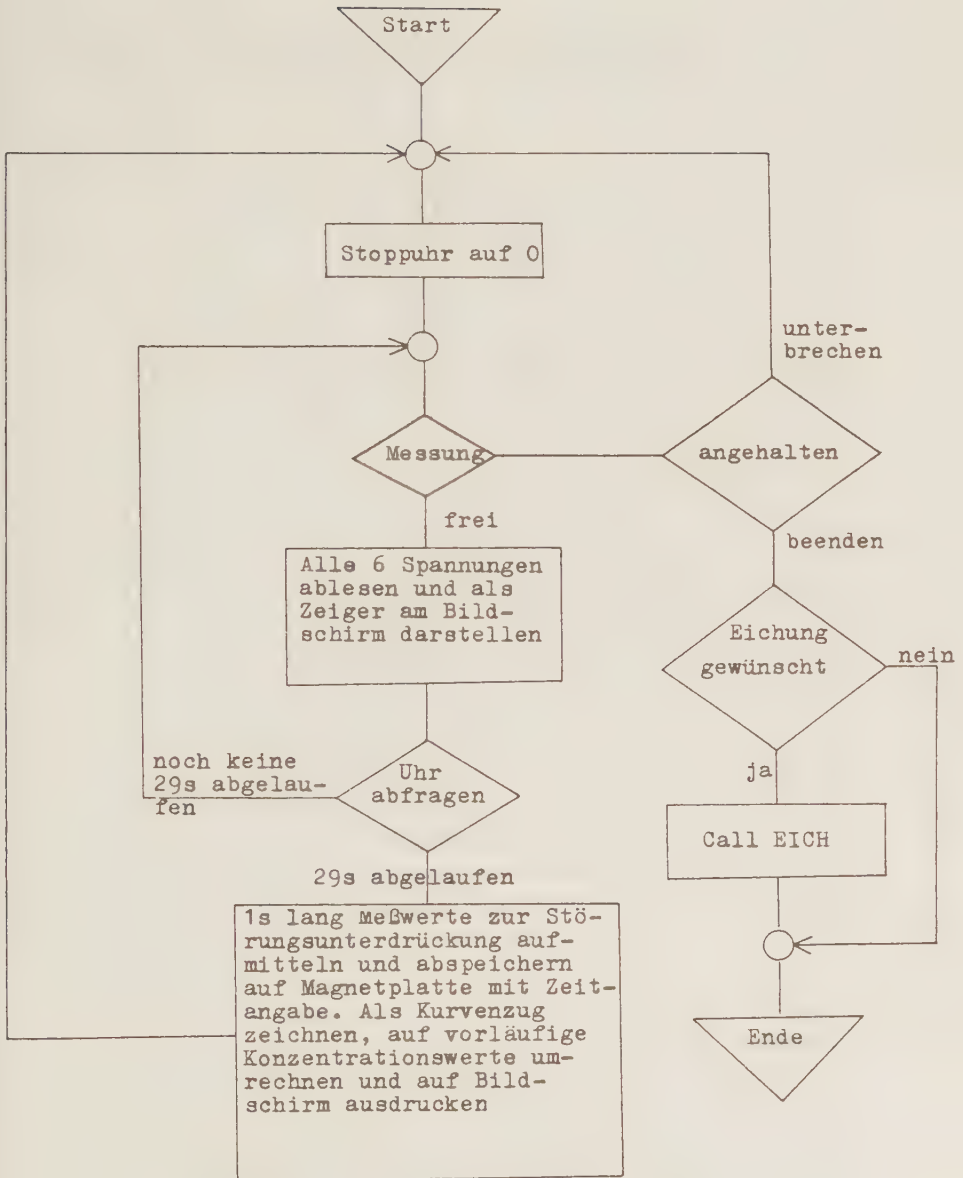


Abb. 9: Flußdiagramm des eigentlichen Meßprogramms
"MESS"

3.2 Funktionsprinzip der ionenselektiven Elektrode

3.2.1 Potentialentstehung

Das Prinzip der Potentialentstehung an den Flüssigmembranelektroden ist das gleiche wie an biologischen Membranen, etwa der Nervenzelle.

Das Ruhepotential einer Nervenzelle entsteht durch ein Ladungsungleichgewicht zu beiden Seiten der als Isolator wirkenden Zellmembran. Das Potential stellt sich zwischen dem Intra- und Extrazellulärraum ein, weil die Membran kein vollkommener Isolator ist; sie ist für gewisse Ionensorten beschränkt durchlässig. Man stellt sich die Membran als mit Poren durchsetzt vor, durch deren enges Lumen nur die relativ kleinen Kaliumionen passen. Aufgrund der weit höheren intrazellulären Kaliumkonzentration ergibt sich ein Nettoausstrom von Kaliumionen aus der Zelle. Dieser Kaliumionenausstrom führte schnell zu einem Ausgleich des osmotischen Druckes, würde dies nicht durch eine entgegengerichtete Kraft verhindert. Diese Gegenkraft entsteht aufgrund der elektrischen Ladung der Kaliumionen. Strömt, getrieben durch die osmotische Druckdifferenz, ein Kaliumion aus der Zelle, so nimmt es eine positive Ladung mit und erzeugt eine positive Aufladung der Außenseite, die einer gleich großen negativen Aufladung der Innenseite entspricht. Damit entsteht ein Membranpotential.

Dieses Potential ist so gerichtet, daß es dem Ausstrom weiterer Kaliumionen entgegenwirkt. Positives Potential stößt positive Ionen ab. Der Ausstrom positiver Ladungen baut also selbst ein elektrisches Potential auf, das den Ausstrom weiterer positiver Ladungen behindert. Das Membranpotential wächst so lange an, bis seine dem Kaliumionenausstrom entgegenwirkende Kraft gleich groß wird wie der osmotische Druck der Kaliumionen.

Bei diesem Potential sind Ein- und Ausstrom der Kaliumionen im Gleichgewicht, man nennt es deshalb das Kaliumgleichgewichtspotential.

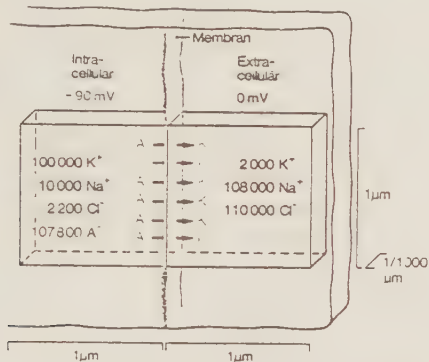


Abb. 10:

Membranladung beim Ruhepotential. Die Aufladung eines kleinen Membranstückes von $1\text{ }\mu\text{m} \times 1/1000\text{ }\mu\text{m}$ Fläche mit je 6 K^+ und Anionen (A^-) wird der Zahl der Ionen in auf beiden Seiten der Membran benachbarten Räumen von je $1\text{ }\mu\text{m} \times 1\text{ }\mu\text{m} \times 1/100\text{ }\mu\text{m}$ Inhalt gegenübergestellt. Die Pfeile deuten die Diffusion der K^+ durch die Membran aus der Zelle an. Angenommen ist eine Membrankapazität von $1\text{ }\mu\text{F}/\text{cm}^2$

(aus Schmidt/Thews, Physiologie des Menschen)

Das Kaliumgleichgewichtspotential wird also bestimmt durch das Konzentrationsverhältnis der Kaliumionen innerhalb und außerhalb der Zelle und durch die auf Kalium beschränkte Diffusion durch die Membran. Für solche Diffusionspotentiale gilt allgemein die Nernstsche Gleichung:

$$E = \frac{R}{z} \frac{T}{F} \ln \frac{\text{extrazell. Konz. des Ions}}{\text{intrazell. Konz. des Ions}}$$

Genauso wie an biologischen Membranen hat man sich die Entstehung des Potentials der ionenselektiven Elektrode vorzustellen.

Es handelt sich bei den von uns verwendeten Elektroden um Flüssigmembranelektroden, deren aktive flüssige Phase in einer porösen PVC-Matrix fixiert ist. Die Flüssigmembran ist eine neutrale, makrocyclische Verbindung mit Kationenlöslichkeit. Für die kaliumselektive Elektrode wird beispielsweise das Antibiotikum Valinomycin verwendet. Prinzipiell gelangen für die organische Phase größere Ringmoleküle zur Anwendung, die einen zentralen Hohlraum aufweisen, der genau auf das "einzufangende" Ion maßgeschneidert ist bzw. werden kann (Camman). Potentialbestimmend für eine ionenselektive Elektrode ist, analog zu den Verhältnissen an biologischen Membranen, diejenige Ionenart, die Elementarladungen über die Phasengrenzfläche bringt. Zusätzlich zu der Ionenaustauschphase befindet sich noch ein organisches Lösungsmittel auf der Membran, das die Aufgabe hat, eine bestimmte Menge des Meßions während der Konditionierungszeit zu lösen, um dadurch ein definiertes chemisches Potential des Meßions in der aktiven Phase einzustellen (Schindler). Die Stabilisierung eines Ions in der Elektrodenphase erfolgt über Ion-Dipol-Wechselwirkungskräfte mit polaren Sauerstoffliganden, die bei dieser Molekülart in den Hohlraum hineinragen (Camman).

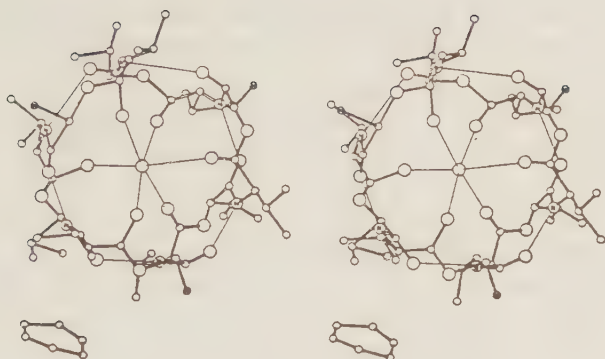


Abb. 11: Stereochemisches Bild einer kaliumselektiven Valinomycinelektrode (nach Schindler)

Durch den Übertritt eines Ions aus der Lösung in die Elektrodenphase entsteht an der Phasengrenzfläche ein Ionengleichgewicht.

$$\text{Meßion}_L + \text{Störion}_P = \text{Meßion}_P + \text{Störion}_L$$

L = In der Lösung

P = In der organischen Phase

Dieses Gleichgewicht wird durch die Aktivität des Meßions bestimmt, außerdem durch die Art und Konzentration des Störions und dem Gesamtionenhintergrund beeinflusst. Diese Faktoren wirken nicht nur auf die Lage des Gleichgewichts, sondern auch auf dessen Einstellzeit.

Die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung ist auch abhängig von der Aktivierungsenergie, die notwendig ist, um ein Ion in der Elektrodenphase zu lösen.

Durch das Vorhandensein von Gegenladungen wird der Übergang eines solvatisierten Ions aus der Lösungsphase in die Elektrodenphase durch den Energiegewinn ermöglicht, der mit der Assoziation des Meßions mit dem Gegenion in der organischen Phase verbunden ist (Camman).

Im Gleichgewichtszustand findet ein Transport von Ladungsträgern über die Phasengrenzfläche statt, der gleich groß in beiden Richtungen abläuft. Dieser Stromfluß heißt Austauschstromdichte. Flüssigmembranelektroden haben eine sehr geringe Austauschstromdichte (Camman).

Das Potential, das durch dieses Ionengleichgewicht entsteht, kann nicht direkt gemessen werden, sondern wird in Bezug gesetzt zu einer Bezugsselektrode. Diese auch Stromschlüssel genannte Bezugsselektrode liefert ein konstantes Potential. Gemessen wird immer eine Potentialdifferenz; deshalb ist es für eine genaue Messung wichtig, daß die Spannung, die die Bezugsselektrode liefert, wirklich konstant ist.

Für eine Bezugsselektrode sind unpolarisierbare Elektroden am besten geeignet. Das Potential entsteht bei unserer Ag/AgCl-Elektrode zwischen dem mit Silberchlorid überzogenem Silberstift und der Chloridionenaktivität der angrenzenden Lösung. Der Stromfluß erfolgt durch die aus der Stromschlüssel Elektrolytlösung durch eine Mikrokerbe ganz langsam in die Meßlösung ausfließenden Kaliumchloridionen.

Eine konstante Ausflußrate soll ein konstantes Diffusionspotential hervorrufen. In der Praxis der analytischen Anwendung der Potentialmessung kommt es nicht auf die absolute Größe des Diffusionspotentials an, sondern nur auf seine Konstanz, da man die Appatur ohnehin mit Eichlösungen kalibriert.

3.2.2 Potentialberechnung

Theoretisch liefern solche Elektrodenketten ein Potential, das direkt proportional ist dem Logarithmus der Aktivität der Meßions.

$$E = E_O + S \lg a_M$$

E = gemessenes Potential
 E_O = Offset-Spannung
 S = Steilheit
 $\lg$ = dekadischer Logarithmus
 a_M = Aktivität des Meßions

Diese Formel ist direkt hergeleitet aus der Nernstschen Gleichung:

$$E = E_O + 2,303 \frac{R}{z_M} \frac{T}{F} \lg a_M$$

R = allg. Gaskonstante
 F = Faradaykonstante
 T = absolute Temperatur
 z_M = Wertigkeit des Meßions
 $2,303 \lg x = \ln x$ (= natürlicher Logarithmus)

Daraus ergibt sich für die Steilheit S :

$$S = \frac{R}{z_M} \frac{T}{F} 2,303$$

Für ein einwertiges Ion, wie Natrium oder Kalium ergibt sich demnach eine Steilheit von

$$S = 59,16 \text{ mV/Dekade}$$

Für das zweiwertige Ion Calcium gilt:

$$S = 29,58 \text{ mV/Dekade}$$

bei einer Temperatur von 25°C .

Nach Simon et al. werden in der Praxis Steilheiten über und unter diesen Idealwerten beobachtet.

Typische Werte sind $30,6 \text{ mV/Dekade}$ für PVC-Membranen mit klassischen Ionenaustauschern, $29,7 \text{ mV/Dekade}$ für neutrale Carriersysteme und nur $20\text{--}23 \text{ mV/Dekade}$ für Mikroelektroden, gestützt auf elektrisch geladene ionenselektiven Komponenten.

Es zeigt sich, daß die gemessene Kurve nicht für alle Konzentrationen linear ist.



Abb. 12: Darstellung des gemessenen Potentials in Abhängigkeit von der Konzentration der Meßlösung. Die Kurve weist nur im mittleren Bereich einen linearen Zusammenhang auf.

Für hohe Konzentrationen mißt man geringere Spannungen als der Konzentration entspricht.

"Erklärt" wird die Abweichung damit, daß die Elektrode die Aktivität der Ionen mißt und nicht die Konzentration.

Man setzt einfach

$$a = f \cdot c$$

a = Aktivität

F = Aktivitätskoeffizient

c = Konzentration

Für den Faktor f , Aktivitätskoeffizient genannt, gilt im Bereich niedriger Ionenkonzentrationen $f = 1$; für höhere Konzentrationen (auch von Störionen!) wird er kleiner als 1.

Es gibt eine theoretische Ableitung für den Aktivitätskoeffizienten (z.B. nach Camman), die aber für die praktische Anwendung nicht sehr nützlich erscheint.

Die Abweichung der gemessenen Potentialwerte von einer Geraden im Bereich niedriger Konzentrationen wird durch Störionen verursacht. Je geringer die Selektivität der Elektrode ist, d.h. je mehr das Potential durch Störionen beeinflusst wird, umso größer ist die Abweichung. Die Elektrode zeigt ab einer gewissen Verdünnung des Meßions nur noch den Störionen hintergrund an.

4. DAS ARBEITEN MIT DER APPARATUR

4.1 Erprobung und Kalibrierung

4.1.1 Erster Versuch zur Festlegung einer Eichgeraden

Die Erprobung unseres Meßsystems führten wir mit wässriger Elektrolytlösung durch. Wir verwendeten Mischlösungen der drei Elektrolyte, die wir später im Speichel bestimmen wollten, in Konzentrationsbereichen, die wir aus der Literatur für die Speichelelektrolyte erwarteten.

Für die Auswertung der gemessenen Potentiale rechneten wir nach der Formel:

$$E = E_0 + S \lg c$$

Die Steilheit S bestimmten wir durch zwei Eichlösungen, für deren Konzentrationen galt:

$$\frac{c_1}{c_2} = 10$$

So erhielten wir für S aus

$$E_1 = E_0 + S \lg c_1$$

$$E_2 = E_0 + S \lg c_2$$

$$E_1 - E_2 = E_0 + S \lg c_1 - E_0 - S \lg c_2$$

$$E_1 - E_2 = S (\lg c_1 - \lg c_2)$$

$$E_1 - E_2 = S \lg \frac{c_1}{c_2} \quad \text{da gilt} \quad \frac{c_1}{c_2} = 10$$

$$\text{ergibt sich} \lg \frac{c_1}{c_2} = 1$$

$$E_1 - E_2 = S$$

Keine Berücksichtigung fand hier die Tatsache, daß wir die Aktivität bestimmten und nicht die Konzentration. Aus diesem Grund waren die ersten Ergebnisse auch nicht befriedigend.

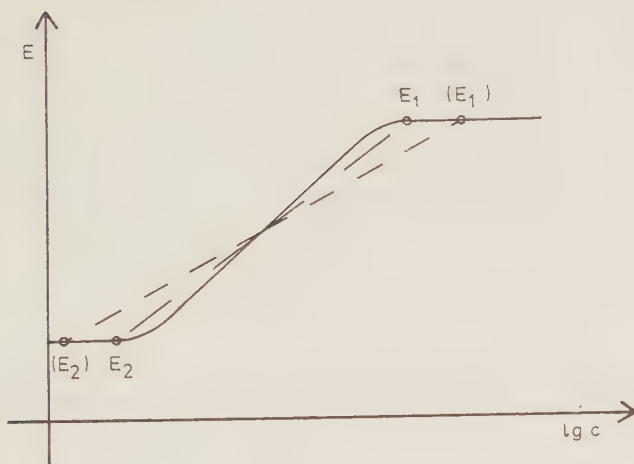


Abb. 13: Graphische Darstellung der Bestimmung der Eichgeraden durch Festlegung zweier Punkte, je einer im hohen und niedrigen Konzentrationsbereich.

Durchgezogene Linie: Gemessene Kurve
Gestrichelte Linie: Eichgeraden in Abhängigkeit von der Konzentration der Eichlösung

Wie diese Abbildung zeigt, kann die Abweichung der berechneten Eichgeraden von der gemessenen Kurve gering sein, wenn die Eichkonzentrationen im mittleren Bereich der Kurve liegen und nicht auf abszissenparallelen Abschnitten.

Insgesamt betrachtet, ist diese Art der Eichgeradenbestimmung aber zu ungenau. Sie berücksichtigt im übrigen den Einfluß von Störionen nicht.

4.1.2 Erprobung mit monoinalen Elektrolytlösungen

Nach Camman erwarteten wir bei Versuchen mit monoionalen Elektrolytlösungen auf Schwierigkeiten zu stoßen, die gegeben sind durch die unsichere Potentialeinstellung der anderen beiden Elektroden des Durchflußblockes, weil die Lösungen kein Meßion für diese enthalten. In diesen Fällen soll es zu Instabilitäten und Drift des Potentials kommen.

In eigenen Versuchen machten wir die Beobachtung, daß bei der Messung von reinen Kaliumionenlösungen das von der Natriumelektrode abgeleitete Potential genau parallel verlief zum Potential der Kaliumelektrode. Daraus läßt sich ersehen, daß die Natriumelektrode auch Kaliumionen mitmißt, wenn auch mit wesentlich geringerer Empfindlichkeit.

Da wir aus diesen Versuchen wußten, daß die Natriumelektrode Kaliumionen mitanzeigt und umgekehrt, mußten wir die gegenseitigen Störeinflüsse berücksichtigen.

4.1.3 Bestimmung der Eichenebene

Wir haben dann die Voraussetzung gemacht, daß die angezeigte Spannung der sechs Elektroden in verschiedener Weise linear oder fast linear von allen drei Ionensorten abhängt. Illustriert sei dies hier, allerdings für nur zwei Ionensorten, am Beispiel einer Natriumelektrode, die von der Kaliumkonzentration stark beeinflußt wird.

Wir bestimmten die Eichkurven der Natriumelektrode bei drei verschiedenen Konzentrationen des Störions Kalium. Diese drei Eichkurven denken wir uns als Schnittlinien der Fläche, auf der die Elektrode mißt.

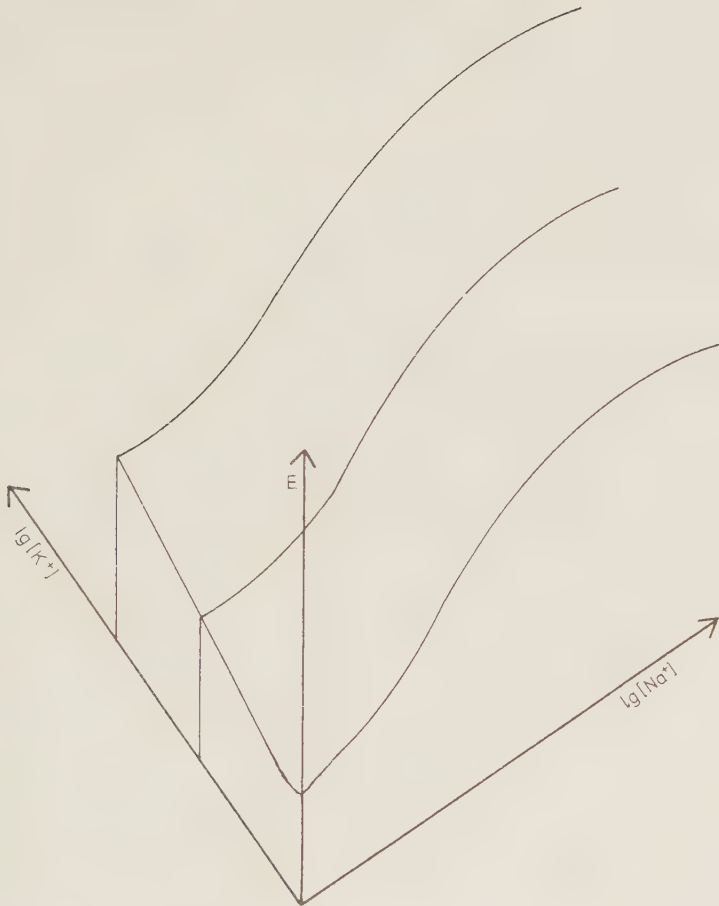


Abb. 14: Darstellung der Meßfläche einer Natrium-elektrode in Abhängigkeit von der Kalium-konzentration. Es wurden Eichkurven für Natrium erstellt bei drei verschiedenen Kaliumkonzentrationen (schematisch).

In einem mittleren Konzentrationsbereich erwies sich diese Fläche als hinreichend eben.

Die mathematische Beschreibung dieser Ebene kann man ansetzen als:

$$E = S_1 \lg [\text{Na}^+] + S_2 \lg [\text{K}^+] + E_0$$

S_1 , S_2 bezeichnen wir als spezifische Steileinheiten, E_0 als Offsetspannung.

Durch die rechnerische Anpassung an die - in diesem Beispiel - 15 Meßpunkte lassen sich die optimalen Werte für S_1 , S_2 und E_0 ermitteln (Abb. 15).

Es zeigt sich darüberhinaus, daß eine leichte Verwindung der Ebene die Anpassung an die Meßpunkte deutlich verbessert.

Daher wurde der Ansatz erweitert um einen Sattelflächenanteil:

$$E = S_1 \lg [\text{Na}^+] + S_2 \lg [\text{K}^+] + \underline{S_{12} \lg [\text{Na}^+] \cdot \lg [\text{K}^+] + E_0}$$

(siehe Abbildung 16)

Rein formelmäßig, wenn auch nicht mehr anschaulich darstellbar, läßt sich das Verfahren von zwei auf drei (und mehr) Ionensorten erweitern.

Für die Zwecke dieser Arbeit wurden generell Natrium, Kalium und Calcium im Ansatz berücksichtigt.

Im Hinblick auf die Messungen im Speichel muß bei diesen Selektivitätsmessungen für jede Ionenart ein sinnvoller Konzentrationsbereich erfaßt werden.

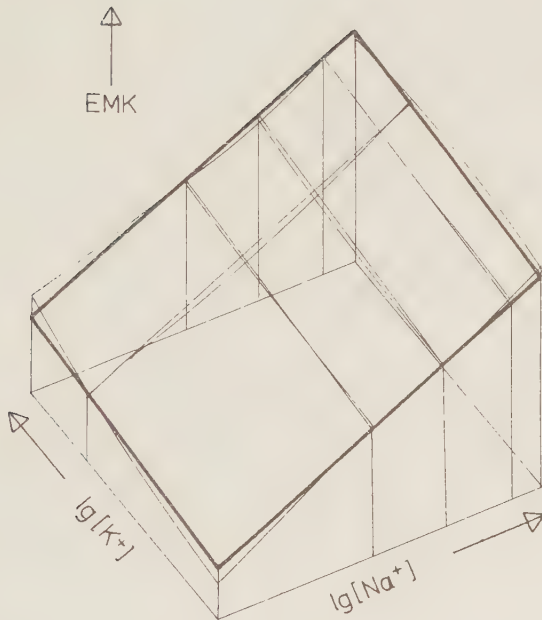


Abb. 15: Interpolation der experimentell ermittelten Polarisationsspannungen für 15 verschiedene Meßlösungen verschiedener Na- und K-Konzentration: Der Ansatz

$$\text{EMK} = 41,1 \text{ mV} \quad \lg[\text{Na}^+] + 6,5 \text{ mV} \quad \lg[\text{K}^+] - 25,9 \text{ mV}$$

gibt die Meßwerte bis auf die "Eckwerte" sehr gut wieder.

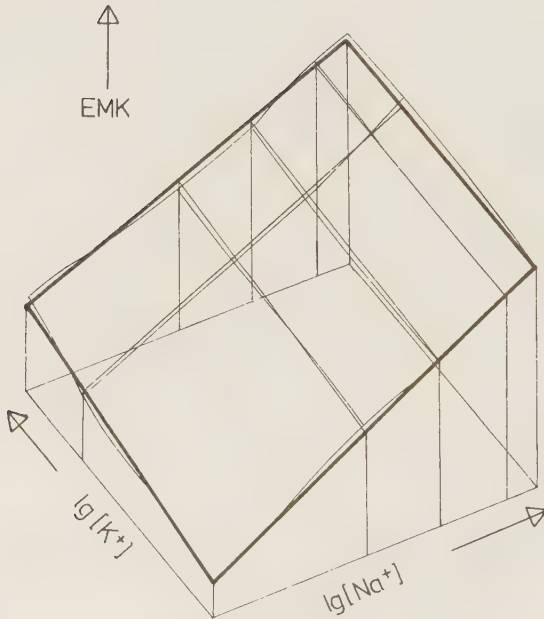


Abb. 16: Die Hinzunahme eines "Schränkungsterms" zur Interpolationsfläche ergibt auch an den "Ecken" sehr gute Übereinstimmung der angenäherten mit den experimentellen Meßspannung

$$\begin{aligned} \text{EMK} = & 52,3 \text{ mV} \quad \lg [\text{Na}^+] + 23,9 \text{ mV} \quad \lg [\text{K}^+] - \\ & 11,6 \text{ mV} \quad \lg [\text{Na}^+] \quad \lg [\text{K}^+] - 42,6 \text{ mV} \end{aligned}$$

Mit so einem Ansatz, übertragen auf drei Ionensorten, werden die Polarisationsspannungen der Einzelelektroden auf Ionenkonzentrationen im Experiment rückgerechnet.

Zur Bestimmung der Elektrodenparameter benützten wir zwölf Lösungen, in denen die drei Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium in verschiedenen Konzentrationen gelöst sind.

Kaliumkonzentrationen von 12,5 mval/l bzw.

25,0 mval/l,

Natriumkonzentrationen von 7,5 mval/l bzw.

30,0 mval/l bzw.

75,0 mval/l und

Calciumkonzentrationen von 1,0 mval/l bzw.

10,0 mval/l

ergeben zwölf verschiedene Kombinationsmöglichkeiten für Eichlösungen.

Dies Lösungen werden mit der Pumpe durch das Meßsystem befördert und die gemessenen Potentiale registriert der Mikroprozessor wie bei einer üblichen Messung. Um sofort nach der Messung einen Überblick zu gewinnen, liefert der Plotter eine graphische Darstellung der registrierten ADC-Werte (siehe Abb. 17).

Aus diesen Meßwerten werden die Parameter der "Meßebene" berechnet.

Die mathematische Beschreibung dieser errechneten Ebene wird für jede Elektrode getrennt als "Satz der Elektrodenparameter" auf Magnetplatte gespeichert, kann beliebig abgerufen und Messungen vorangestellt werden und dient als Grundlage für die Umrechnung der Meßspannungen in Konzentrationswerte.

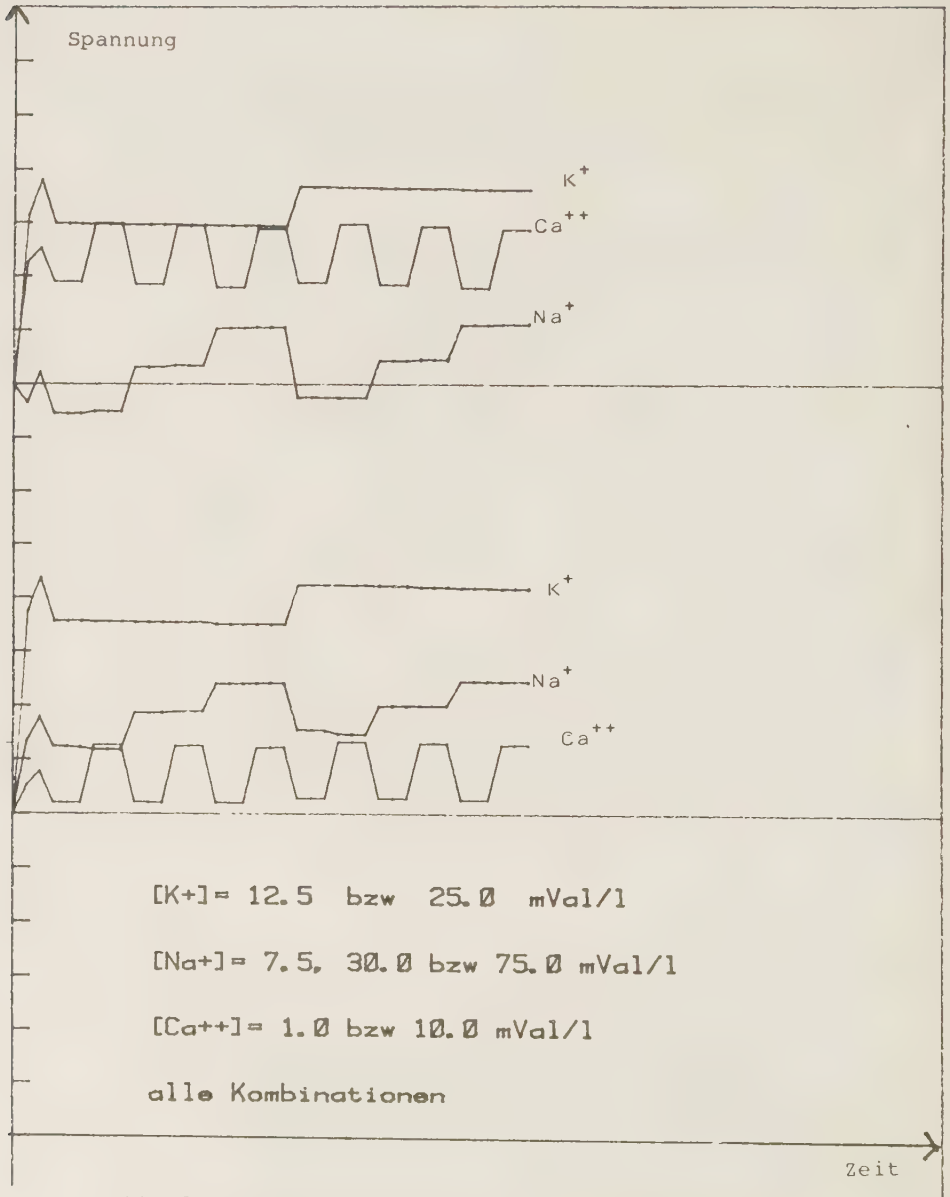


Abb. 17: Graphische Darstellung der Meßwerte einer Kalibrierung zur Bestimmung der Elektrodenparameter

4.1.4 Zeitliche Drift

Bei der Messung ein und derselben Eichlösung über eine längere Zeitdauer konnten wir ein leichtes "Abdriften" des gemessenen Potentials bemerken. Von einer Messung zur anderen korrigierten wir diesen Fehler durch eine Parallelverschiebung der Meßebene. Wir wollten diesen Fehler aber auch während einer Messung berücksichtigen. Bei Versuchen hatte sich eine annähernd lineare Abhängigkeit dieser "Drift" von der Zeit gezeigt.

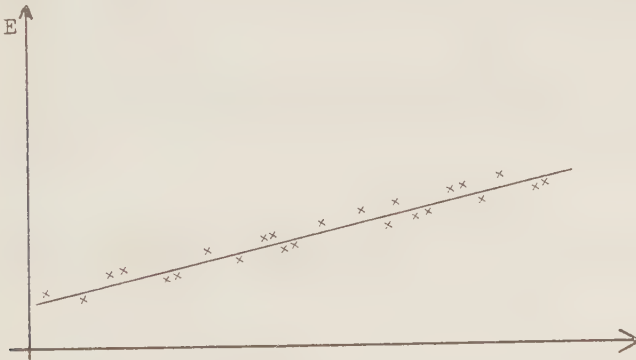


Abb. 18: Veränderung des gemessenen Potentials in Abhängigkeit von der Zeit (schematisch)

Die Bestimmung dieser Geraden erreichten wir durch die Festlegung zweier Punkte.

Wir maßen das Potential ein und derselben Lösung vor und nach der Messung und erhielten damit den Anfangs- und Endpunkt der Strecke. Während der Messung registrierten wir die Zeit und konnten so jeder Potentialmessung einen Punkt auf dieser "Driftgeraden" zuordnen.

So eine Korrektur kann natürlich erst nach Abschluß der Messung stattfinden. Bei der Auswertung der Potentiale berücksichtigt der Rechner den Zeitpunkt der Messung.

4.1.5 Temperaturdrift

Nach der Theorie (Seite 29) sollten die Steilheiten der Elektroden proportional zur absoluten Temperatur von Meßlösung und Meßsystem ansteigen.

Durch die Temperaturabhängigkeit der Referenzelektrode komplizieren sich die Verhältnisse.

Daher wurde in einem weiteren Vorversuch Meßlösung mit den drei Ionensorten Natrium, Kalium und Calcium während der Messung langsam ($1^{\circ}\text{C}/\text{Minute}$) von 17°C auf 37°C erwärmt. Die Meßwerte drifteten dann ebenso langsam ab.

Zur Kontrolle, wieviel Drift dabei auf Kosten der Temperatur und wieviel auf Kosten der Langzeitinstabilität geht, wurden nach 20 Minuten wieder 17°C eingestellt.

Tabelle 1 gibt, aufgeschlüsselt nach Temperatur- und Zeiteinfluß, die entsprechenden Driftkoeffizienten an.

Elektrode	Temperaturkoeffizient	Zeitkoeffizient
Natrium	1,05 mV/ $^{\circ}\text{C}$	0,5 mV/min
Kalium	0,6 mV/ $^{\circ}\text{C}$	0,43 mV/min
Calcium	0,9 mV/ $^{\circ}\text{C}$	0,37 mV/min

Tab. 1: Driftkoeffizienten der einzelnen Elektroden

Die graphische Darstellung des Versuchsergebnisses siehe nächste Seite.

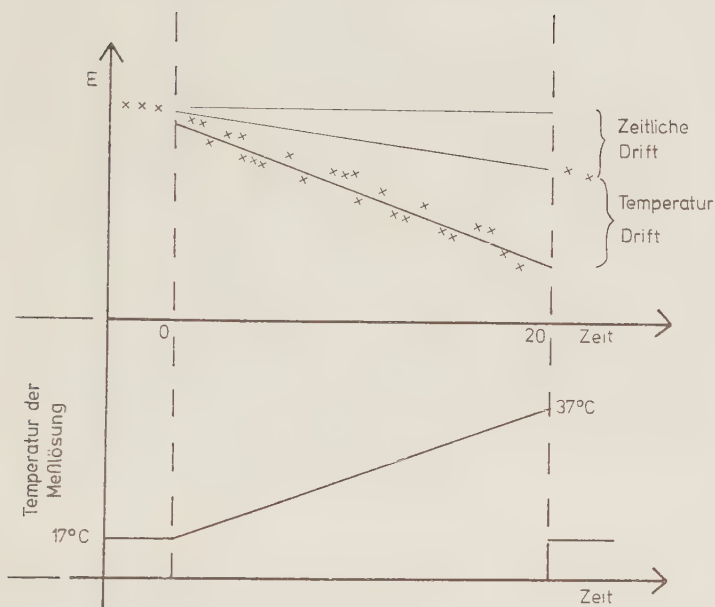


Abb. 19: Potential einer Lösung bei steigender Temperatur in Abhängigkeit von der Zeit (schematisch)

Es zeigt sich also, wie erwartet, daß die Temperatur die Messung durchaus beeinflußt. Es traten Potentialänderungen von 2,5% bis 13% auf, bei einer Änderung der Temperatur um 20 Grad.

Zur Vermeidung eines Fehlers durch Temperatureinflüsse oder komplizierter Eichvorgänge zur Feststellung von Isothermen empfiehlt es sich, bei konstanten Temperaturen zu arbeiten.

1.4.6 Messung von proteinhaltigen Lösungen

In Vorversuchen wollten wir klären, ob Proteine, die ja im Speichel vorhanden sind, die Messung beeinflussen. Dazu ließen wir eine Elektrolytlösung mit den drei Meßionen Natrium, Kalium und Calcium unter Albuminzusatz (2g/l) durch unser System fließen. Es zeigte sich, daß bei genügender Vorkonditionierung des Meßsystems kein direkter Einfluß auf das Potential nachzuweisen war. Sicherlich bewirken Proteine eine schnellere Alterung der aktiven Phase der Elektroden und können Störungen der Bezugselektrode durch Ausfällung mit dem Stromschlüsselektrolyten hervorrufen, aber daß eine Potentialmessung in Anwesenheit von Protein unmöglich sei, konnten wir nicht feststellen.

4.1.7 Speichel als Meßlösung

Der nächste Schritt war die Überprüfung der Tauglichkeit des Systems zur Messung von Speichelelektrolyten. Dazu sammelten wir Speichel und ließen ihn, wie vorher die Elektrolytlösung, mit der Pumpe durch das Meßsystem befördern. Da keine Störungen auftraten, die uns den Schluß nahelegten, daß ionenselektive Flüssigkeitsmembranelektroden für die Messung von Speichelelektrolyten ungeeignet seien, wir andererseits aus der Literatur wußten, daß diese Elektroden für Kationenbestimmungen im Parotisspeichel bereits erfolgreich ausprobiert worden waren, standen der in-vivo Messung keine grundsätzlichen Bedenken mehr im Wege.

4.2 Erste Erfahrungen und Ergebnisse

4.2.1 Erprobung der kontinuierlichen in-vivo Messung

Die Kanülierung der Speicheldrüsenausführungsgänge kann auf Wunsch des Patienten in lokaler Schleimhutanästhesie erfolgen (Panthocain 1%ig mit Watteträgern auf die Schleimhaut auftragen), obwohl die Untersuchung auch ohne Anästhesie für den Patienten schmerzlos ist. Die einzige Belästigung, die der Patient ertragen muß, ist eventuell ein Druckgefühl, wenn die Kanülen im Ausführungsgang liegen und das reglose Offenhalten des Mundes für geraume Zeit. Etwas unangenehm für den Probanden ist noch die Stimulation mit Zitronensäure, die wir über die gesamte Meßdauer mit minütlich einigen Tropfen Zitronensäure (4%ig) durchführen.

Nach erfolgter Kanülierung werden die Enden der Kanülen mit dem zuführenden Silikonschlauch verbunden. Eventuell werden die Verbindungsstellen mit einer Fettcreme abgedichtet, um eine Leckstelle im System zu vermeiden, was zum Verlust von Probenlösung oder zum Entstehen von Luftblasen führen kann. Es ist nämlich unbedingt darauf zu achten, daß das System frei von Luftblasen bleibt; da Luftblasen die Entstehung des Potentials behindern, führen sie zu unreproduzierbaren Meßwerten.

Das Ende des abführenden Schlauches steckt, wie schon vorne beschrieben, in Enzymtestpipetten. Durch den minütlichen Wechsel der Pipetten erhalten wir die Flußrate pro Minute. Für weitere Untersuchung des Speichels, beispielsweise Protein- oder Amylasekonzentration, lassen sich die aufgefangenen Proben weiterverwenden, wenn man berücksichtigt, daß einmal bei der Messung eine Verunreinigung mit Stromschlüsselelektrolytlösung erfolgt, zum anderen durch den Totraum des Meßsystems eine Volumenverschiebung entsteht.

Das ausschlaggebende Totvolumen, das Volumen zwischen Drüsenausführungsgang und Neutralelektrode, beträgt 0,25 ml. Während nämlich zeitliche Änderungen an der Flußrate instantan auch am Ende der Apparatur sichtbar und protokollierbar sind, werden die dazugehörigen Änderungen der Konzentration erst später angezeigt, wenn dieses Totvolumen abgelaufen ist. Unter der Voraussetzung, daß das System zu Beginn der Messung gefüllt ist und Verluste vermieden werden können, läßt sich aus dem Protokoll der Zeiten, Konzentrationen und Flußraten die notwendige Verschiebung errechnen und die richtige Zuordnung herstellen. Diese etwas komplizierte Prozedur läßt sich umgehen, wenn das Totvolumen sehr klein im Vergleich mit den Flußraten ist.

Der Ablauf der Messung erfolgt im Dialog mit dem Mikroprozessor. Als erstes muß ein Filename eingegeben werden, unter dem die ganze Messung auf Magnetplatte gespeichert wird und unter dem sie auch wieder abgerufen werden kann. Danach werden die Daten des Patienten, Name, Geburtsdatum und Diagnose registriert. Der Mikroprozessor fordert nun eine Eichung an, mit Angabe der Konzentration der Eichlösungen. Diese Eichung mit zwei Elektrolytmischlösungen erfolgt zu Beginn und am Ende der Messung - sie kann bei Bedarf auch während der Messung erfolgen - und dient, wie oben bereits beschrieben, der Eliminierung der zeitlichen Drift. Deshalb registriert und protokolliert der Mikroprozessor mit Beginn der Messung der Eichlösungen die Zeit, die von da ab bis zum Ende der Schluß Eichung mitläuft.

Die etwas aufwendige Festlegung der Elektrodenparameter mittels zwölf Eichlösungen muß nicht vor jeder Messung erfolgen. Nach unseren Erfahrungen reicht eine wöchentliche Bestimmung, solange keine Störungen auftreten.

Vor und nach jeder Messung genügt es mit nur zwei Eichlösungen eine "Kontrolleichtung" durchzuführen. Nach dem Start der Messung läuft das Programm ohne jedes Zutun ab. Der Mikroprozessor druckt alle 30s die gemessenen Potentiale, die aus 128 Ablesungen gemittelt sind, samt Varianz aus, sowie eine vorläufige Umrechnung auf Konzentrationen. Zusätzlich erscheinen am oberen Rand des Bildschirms Pfeile, je einer für jeweils eine Elektrode, und schon aus der Bewegung der Pfeile läßt sich erkennen, ob Potentialschwankungen auftreten. Außerdem entsteht während der Messung eine Kurve der gemessenen Potentiale auf dem Bildschirm, die alle 30s um das neu ermittelte Potential ergänzt wird. Wird die Messung beendet, so fordert der Mikroprozessor die Schlußzeichnung an.

4.2.2 Elektolytbestimmung im Submandibularissspeichel

Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten gestaltet sich die Kanülierung der Glandula submandibularis etwas schwieriger als die der Glandula parotis. Das Ostium des Ausführungsganges der Glandula parotis ist meist etwas größer und auch besser sichtbar. Zusätzlich lassen sich die Ostien der Glandula submandibularis nicht fixieren. Sie können sich leicht der Kanülierung entziehen, da das Gewebe am Mundboden ziemlich schlaff ist.

Wir befestigten die Kanülen mit Klebestreifen im Mundwinkel und es zeigte sich, daß hier die überkreuzte Fixierung haltbarer ist als die seitengleiche.

Wegen der hohen Viskosität des Sekretes stellte der enge Durchflußblock einen relativ hohen Strömungswiderstand dar, so daß bei starkem Sekretionsdruck teilweise die Kanülen aus den Ausführungsgängen regelrecht herausgeschwemmt wurden, was zur Unterbrechung der Messung führte.

Der Mucingehalt des Submandibularisspeichel ist nicht nur für die schlechten Fließeigenschaften verantwortlich, sondern auch für die starke Verunreinigung der sensitiven Membranen.

Kräftiges Durchspülen mit Aqua dest. oder Harnstofflösung kann zwar die Membranen reinigen, kann aber eine vorzeitige Alterung derselben nicht verhindern. Die vom Hersteller angegebene Haltbarkeitsdauer von einigen Monaten für diese Membranen wurde bei Messungen von Submandibularisspeichel nicht erreicht. Die aktiven Phasen mußten oft schon nach einigen Tagen ausgetauscht werden.

Beispiel einer Messung (siehe Abb. 20):

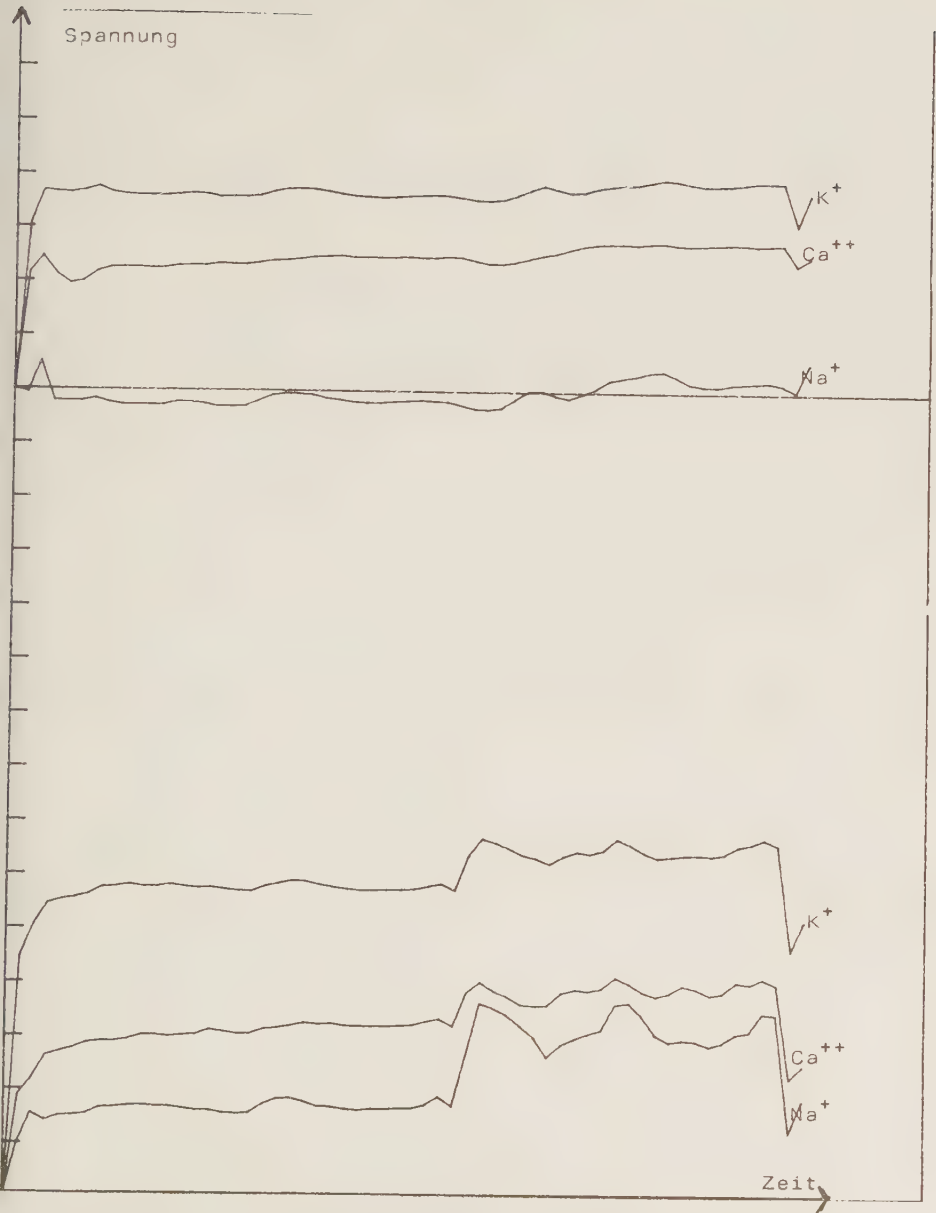


Abb. 20: Graphische Darstellung des Meßprotokolles einer Messung von Submandibularisspeichel. Patient mit Bellscher Parese links. (Oben entspricht der rechten Seite, unten entspricht der linken Seite.)

4.2.3 Elektrolytbestimmung im Parotisspeichel

Die erwähnten Nachteile der Messung von Submandibularispeichel sind im Vergleich zum Parotisspeichel zu sehen.

Durch die geringere Viskosität des Sekretes konnten wir bei den Messungen von Parotisspeichel größere Flußraten erzielen. Außerdem ist "der Effekt, der durch Stimulation zu erzielen ist, an der Glandula parotis größer als an der Glandula submandibularis (Münzel)."

Beispiel einer Messung (siehe Abb. 21):

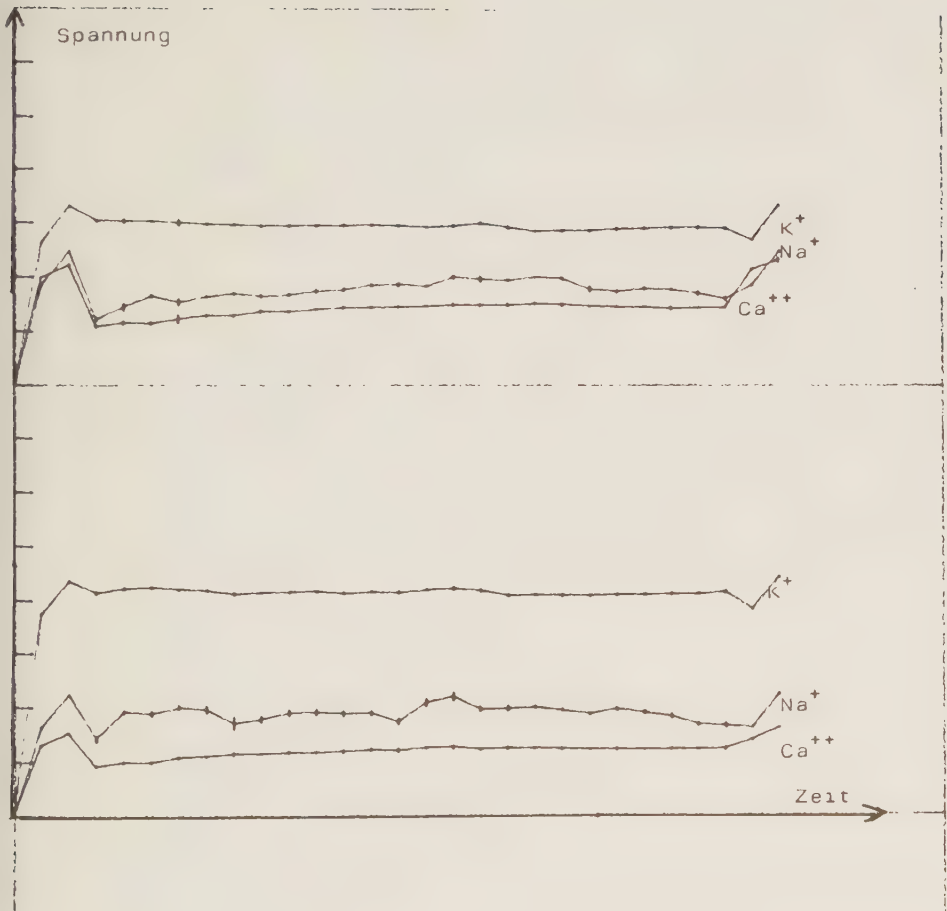


Abb. 21a: Graphische Darstellung des Meßprotokolls einer Messung von Parotisspeichel am gesunden Patienten

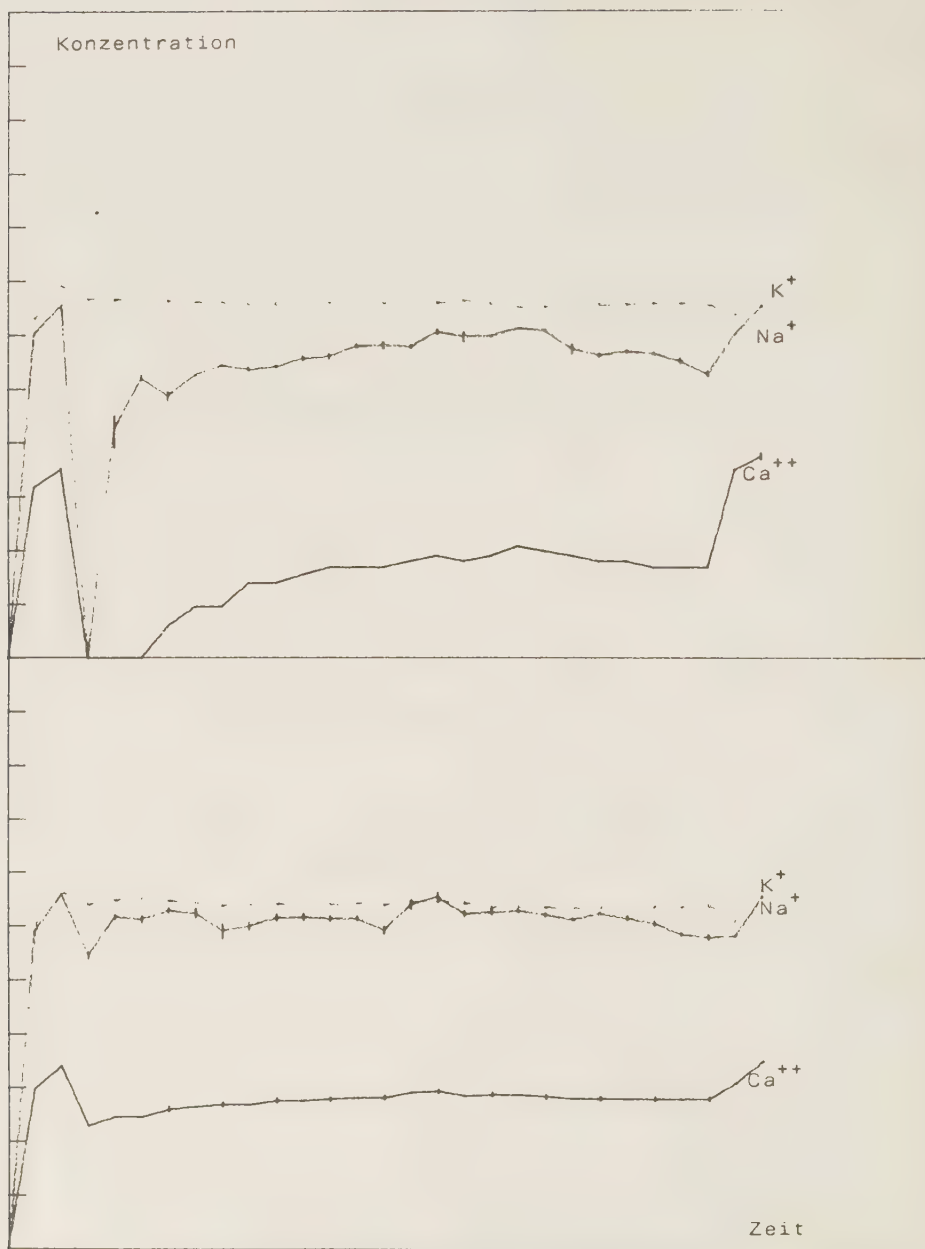


Abb. 21b: Graphische Darstellung der auf Konzentrationen umgerechneten Meßwerte aus Abb. 21a ohne Korreturen

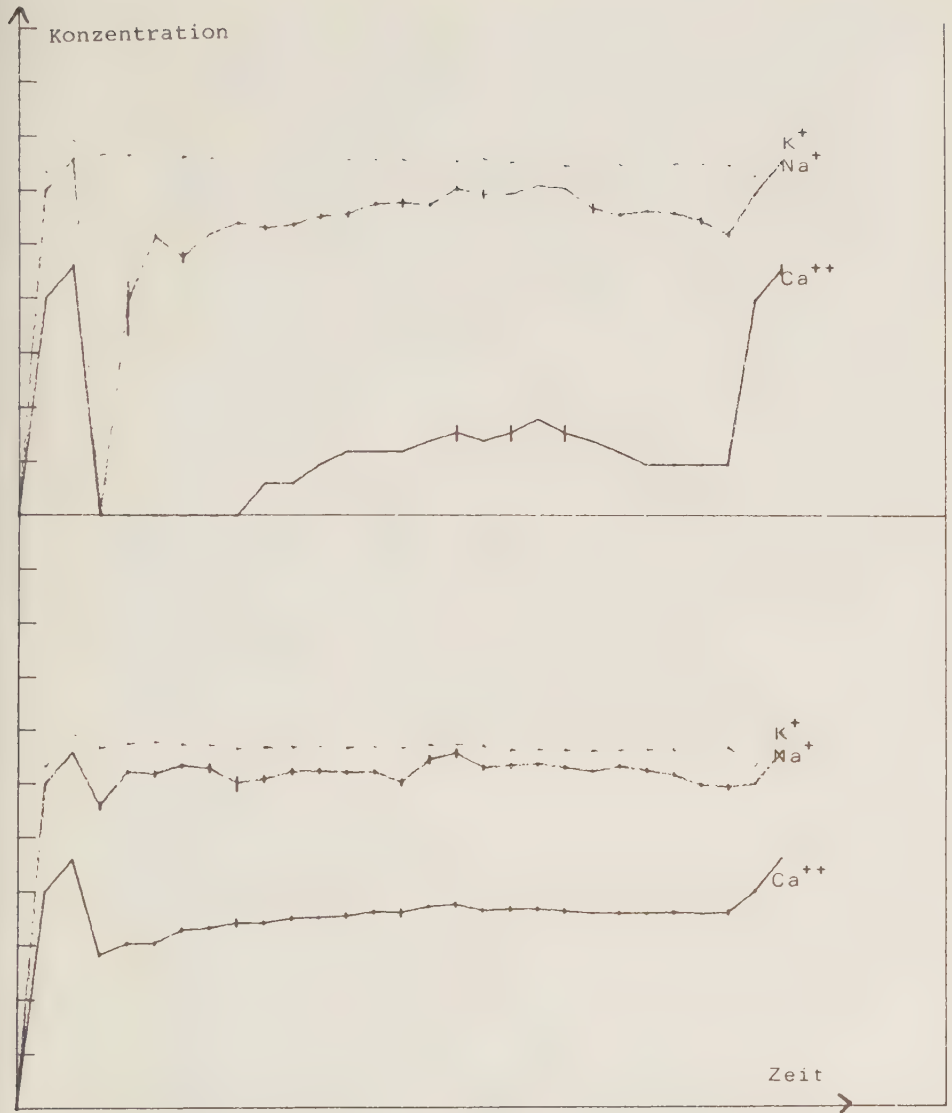


Abb. 21c: Dieselben Meßwerte wie Abb. 21a und Abb. 21b, umgerechnet in Konzentration mit Steigungs- und Offset-Korrekturen

Es läßt sich sagen, daß diese Apparatur zur kontinuierlichen Elektrolytmessung in wässrigen Lösungen ohne Probleme eingesetzt werden kann, ebenso zur Bestimmung der Elektrolyte im Parotisspeichel. Der Einsatz dieses Meßsystems zur Analyse von Submandibularisspeichel bietet zwar noch Probleme, die aber durchaus lösbar erscheinen.

5. DISKUSSION

Speichelchemische Untersuchungen können Hinweise auf Erkrankungen der Speicheldrüsen geben. Aber auch Veränderungen im Organismus, die primär die Speicheldrüsen nicht betreffen, beeinflussen die Elektrolytkonzentrationen. Deren Bestimmung im Speichel kann Aufschlüsse über die Transportkinetik an verschiedenen Membranen geben. So können wegen der funktionellen Gleichheit der Membranen im Labyrinth, in den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen und in den Tubuli der Nieren aus Speichelelektrolytveränderungen Rückschlüsse auf den Funktionszustand der anderen Organe gezogen werden. Wegen dieser funktionellen Gleichheit lassen sich verändernde Einflüsse von Hormonen und Stoffwechselstörungen in gleicher Weise an jedem System feststellen.

Beispielsweise sind beim Hyperaldosteronismus die Veränderungen im Speichel deutlicher feststellbar als im Urin, da an der Niere gegenregulatorische Vorgänge einsetzen, die an den Speicheldrüsen nicht zum Tragen kommen (Kreusser).

Submandibularisspeichel kann aufgrund seiner Flußraten und Zusammensetzung Aufschlüsse über die Funktion des N. facialis geben. Allein aus den Flußratenmessungen können Prognosen über den Verlauf von Facialisparesen gestellt werden (May). Bisher wurden Speichelelektrolyte im Atomabsorptionsspektralphotometer durch Vergleich mit Eichlösungen gemessen (Bumm, Berg, Tiedtke). Dafür mußten die Speichelproben fraktioniert gesammelt und zentrifugiert werden. Die Bestimmung der Fraktionen einer 20-minütigen Messung konnte dabei mehrere Tage in Anspruch nehmen.

Mittlerweile haben für Elektrolytbestimmungen in Technik, Umweltschutz und Medizin verschiedene Konstruktionen von ionenselektiven Elektroden Eingang gefunden, die eine von ihrer jeweiligen Ionenkonzentration abhängige Polarisationsspannung annehmen und durch geringen Arbeits- und Zeitaufwand entscheidende Vorteile bieten.

Gegenstand der Arbeit war es, unter Verwendung von ionenselektiven Flüssigmembranelektroden ein Meßsystem für kontinuierliche in-vivo Messungen am Patienten zu entwickeln.

Dazu sind je drei solcher Elektroden für die Ionensorten Natrium, Kalium und Calcium zusammen mit einer Referenzelektrode in Durchflußblöcke eingebaut. Der zu untersuchende Speichel strömt durch das System hindurch und führt je nach Ionenkonzentration zur Einstellung bestimmter Polarisationsspannungen. Es bietet sich an, die Steuerung der Messung, die Ablesung der Potentiale, deren Registrierung, Kalibrierung und Auswertung von einem Mikroprozessor übernehmen zu lassen.

Die erstellte Apparatur sollte zum Einsatz für kontinuierliche on-line Messungen geeignet sein. Vorläufige Ergebnisse sollten schon während der Messung geliefert werden. Außerdem wollten wir grundsätzlich Speichel der beiden Seiten gleichzeitig messen, damit die Drüsen derselben Stimulation ausgesetzt sind und somit sichergestellt ist, daß beide Seiten miteinander vergleichbar sind.

Bisher standen uns die erwähnten drei Elektroden für Natrium, Kalium und Calcium zur Verfügung. Wenn das Verfahren sich in der Routine bewährt, ist es ohne große Komplikationen möglich, die Apparatur auf weitere Ionensorten auszubauen.

Infolge der nicht hundertprozentigen Selektivität der Elektroden mußte für jeden Ionentyp der Fremddioneneinfluß mit berücksichtigt werden. Für die bessere Kalibrierbarkeit der Elektroden wurde ein Verfahren gefunden, das die Fremddioneneinflüsse zuverlässig bestimmt. Zusätzlich sollten überschlägige Kontrollmessungen vor und nach jeder Messung Potentialdriften durch Temperatur und Langzeitinstabilität eliminieren.

An Materialien standen die beiden Durchflußblöcke mit den ionenselektiven Flüssigmembranelektroden, die Spannungsfolger und Filterverstärker, sowie das Mikroprozessorsystem zur Verfügung. Diese Grundbausteine des Meßsystems fanden ihren Platz auf einem "kragenförmigen" Tisch, mit Hilfe dessen die Elektrodenblöcke direkt neben den Wangen des Patienten plaziert werden konnten. So wurde erreicht, daß die Kapillarschlauchleitungen von den Speicheldrüsen beider Seiten zu den Durchflußblöcken sehr kurz gehalten werden konnten und damit das Totvolumen vertretbar klein wurde. Das ist deshalb wichtig, weil zwar Änderungen der Speichelflußraten instantan am Ende der Apparatur sichtbar werden, die zugehörigen Konzentrationswerte jedoch erst verzögert nach Durchlaufen des Totvolumens zur Anzeige kommen.

Auf die wichtige Abhängigkeit aller Konzentrationen von der Speichelflußrate ist im Abschnitt 2 eingegangen worden.

Zur Flußratenmessung bestimmten wir das Volumen der zeitlich fraktioniert gewonnenen Speichelproben, die damit auch zu spektroskopischen Kontrollen zur Verfügung standen.

Zur Steuerung der Messungen, deren Protokollierung und Auswertung mußten für das Mikroprozessorsystem geeignete Programme erstellt werden. Im einzelnen wurde ein Programm entwickelt, das die Eichmessungen mit eingestellten Lösungen im Ablauf steuert und die Ergebnisse in Form von Elektrodenparametern auf Magnetplatte speichert, ein anderes, das den Ablauf, einschließlich der Kontrolleichungen, steuert, dabei die Meßergebnisse jederzeit sichtbar als Zeiger und in Zahlenform darstellt und die Ergebnisse als Meßprotokoll auf Magnetplatte speichert. Darüberhinaus wurde ein weiteres Programm, das aus den gespeicherten Protokolldateien, unter Eliminierung von Drift und mangelnder Selektivität bereinigte Konzentrationsmeßkurven erstellt.

Als nächstes Problem stellte sich die Kalibrierung der Meßanordnung. Dabei erhob sich im Hinblick auf den Vergleich mit spektrometrischen Untersuchungen die Frage, welche Rolle die Tatsache spielt, daß die ionenselektiven Elektroden grundsätzlich die Ionenaktivität messen, nicht die Ionenkonzentration, und schon gar nicht die Atomkonzentration.

In früheren spektroskopischen Untersuchungen wurde bedingt durch die Meßmethode der Gesamtgehalt einer Atomsorte bestimmt. Mit ionenselektiven Elektroden werden "nur" die ionisierten Atome, und von diesen nur die frei beweglichen Ionen, erfaßt, d.h. unsere Konzentrationswerte lagen also meist unter den Werten früherer Autoren. Die größte Diskrepanz war bei den Calciumwerten des Parotisspeichels zu erwarten. Der Grund dafür ist, daß die Amylase ein Chelatbildner ist, deren Aktivität an die Anwesenheit eines zentralen Calciumatoms gebunden ist (Münzel).

Diese Calciumatome werden bei spektrometrischen Untersuchungen mit erfaßt, bei Messungen mit ionenselektiven Elektroden tragen sie nicht zur Potentialbildung bei, da sie nicht frei beweglich sind.

Nicht nur im Hinblick auf unsere Meßmethode erscheint es übrigens durchaus sinnvoll, in Zukunft anstelle von Konzentrationen die Aktivitäten als entscheidende Größen anzugeben. Denn auch die Vorgänge an Zellmembranen sind ja abhängig von der Aktivität und nicht von dem Gesamtgehalt der Atome einer bestimmten Sorte. Erwähnt sei hier das Beispiel der Tetanie, die in der Klinik in normo- und hypokalzämische unterteilt wird. Die Ursache für die Tetanie ist ein Absinken der Calciumionenaktivität im Serum. Da bisher bei der Bestimmung des Serumcalciumspiegels aber alle Calciumatome erfaßt werden - auch diejenigen, die an Eiweiß gebunden sind - wurde die Einteilung in normo- und hypokalzämische Tetanie notwendig. In diesem Fall könnte die Angabe der Calciumionenaktivität im Serum eindeutigere Aussagen machen.

Die Kalibrierung der Apparatur wurde durch die mangelhafte Selektivität, speziell der Natriumelektrode, erschwert. Durch unsere Methode der Eichung, die spezifische Störionen mit berücksichtigt, konnte diese Eigenschaft der ionenselektiven Elektrode ausgeglichen werden.

Über Natrium, Kalium und Calcium hinaus konnten allerdings weitere Elektrolyte, die durchaus zum Gesamtionen hintergrund beitragen, noch nicht berücksichtigt werden. Ionen, die spezifisch die Anzeige stören, da sie aufgrund der gleichen chemischen Gruppenzugehörigkeit dem Meßion sehr ähnlich sind, wurden hier außer Acht gelassen. Zu denken wäre beispielsweise an Zinkionen, die Störungen an der Calciumelektrode verursachen sollen (Güggi).

Störungen von Anionen sind aufgrund der sterischen Konfiguration der Carriersubstanzen nicht zu erwarten, doch können Anionen, wie Brom oder Jod, mit der Stromschlüsselelektrolytlösung Niederschläge bilden, die die Mikrokerbe der Referenzelektrode verstopfen und damit deren Potential stören.

Störungen an der Referenzelektrode werden alle drei Meßwerte eines Durchflußblockes gleichmäßig beeinträchtigen: Solche Störungen sind nicht einmal selten, können aber schnell erkannt und durch Austauschen des Stromschlüsselkontaktsteckers behoben werden.

Der Einfluß der Proteine hatten wir überprüft und waren zu dem Ergebnis gekommen, daß sie das Potential nicht beeinflussen (siehe S. 44). In der Praxis erschwerte das Vorhandensein von Glykoproteiden - den Mucinen - die Messungen. Mucine behindern die Entstehung des Potentials, wenn sie an den ionenselektiven Membranen haften bleiben, somit verlängern sie die Einstellzeiten. Außerdem besteht die Gefahr, daß die Membranen durch Speichel zerstört werden. "Wegen der Löslichkeit der aktiven Phase in solchen Medien (partiell wässrigen Lösungen) wird die definierte Phasengrenze gestört und u.U. die gesamte aktive Phase aus der Elektrode herausgelöst (Camman)."

In eigenen Versuchen konnten wir feststellen, daß durch den Einfluß der Mucine die sensitiven Membranen schneller altern und häufiger ausgewechselt werden müssen. So wurden außer den käuflich erworbenen kompletten Elektroden auch im Hause mit PVC-Carrier-matrix bezogene Elektroden erprobt. Die Membranen wurden uns freundlicherweise von Prof. Dr. Simon, Zürich, zur Verfügung gestellt.

Verbesserungsfähig erscheint noch die Methode der Flußratenmessung. Durch den Strömungswiderstand, den unser Meßsystem darstellt, erzielten wir nicht allzu große Flußraten. Die Höhe der Flußrate ist für unsere Messung zwar nicht ausschlaggebend, jedoch ist nicht geklärt, welche Wirkung ein Rückstau von Speichel auf die Drüse und ihr Gangsystem hat. Deshalb wäre eine Meßanordnung ideal, die den Strömungswiderstand mittels einer Pumpe, die durch den Sekretionsdruck gesteuert wird, kompensiert. Zusätzlich könnten aus der erforderlichen Pump-rate unmittelbar die "freien" Flußraten entnommen werden.

Eine andere Ursache für die geringen Flußraten könnte in der Art der Speichelgewinnung liegen.

Nach Rauch und Khaskar führt der Dauerreiz, der durch die Kanülierung des Speicheldrüsenausführungsganges entsteht, zur Bildung von besonders zähem und viskösem Speichel. Das dürfte dann auch der Grund sein, warum bei manchen Probanden überhaupt kein Speichelfluß durch das System zu erzielen war: Die Viskosität des Speichels war zu groß, um den Widerstand des Durchflußsystems zu überwinden. Deshalb wurde auch überlegt, ob man nicht für diese Messungen vom Kanülieren abgehen und den Speichel mit einer Vakuumsaugkapsel, die über der Öffnung des Ausführungsganges befestigt wird, gewinnen könne. Erste Versuche für die Submandibualdrüsen waren nicht sehr erfolgversprechend und wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt. Ein weiterer Grund, von der Kanülierung abzugehen und doch Versuche mit Absaugkapseln weiterzuführen, liegt in der Hypothese von Thaysen zur Speichelbildung begründet: Wie er und andere Autoren zeigen konnten, bilden die Drüsenacini ein plasmaähnliches Primärsekret, das im Gangsystem durch aktive Resorptions- und Sekretionsvorgänge verändert wird.

So konnten Knauf und Frömter zeigen, daß sich die Natriumkonzentrationen am Anfang und am Ende des Gangsystems um eine Zehnerpotenz unterscheiden können. Die Spitzen unserer Kanülen waren zwar gleich lang, aber aufgrund anatomischer Unterschiede konnten die Kanülen nicht immer bis zur selben Tiefe vorgeschoben werden. Da es aber für die Elektrolytkonzentrationen, vor allen Dingen für die Natriumkonzentration, wichtig ist, an welcher Stelle des Ganges das Sekret entnommen wird, sollte man, um gleiche Grundvoraussetzungen zu haben, den Speichel direkt am Ostium des Ausführungsganges sammeln.

In der derzeitigen Form ist die Apparatur in der Lage, über beliebig lange Zeit (wir beschränkten uns in der Regel auf 20 Minuten) die Speichelelektrolytwerte zu messen, zu registrieren und vorläufige Ergebnisse gleichzeitig von beiden Seiten zu liefern. Die "Bereinigung" der Konzentrationswerte durch iteratives Korrigieren löst dabei das Selektivitätsproblem der Elektroden. Es zeigt sich, daß die nachträgliche Korrektur auf Drift der Elektrodenparameter nur noch geringe Verbesserungen bringt. Es treten jedoch bei dem hier gewählten, in allen Konzentrationen linearen Ansatz für die Elektrodenspannungen, Probleme auf, sobald Konzentrationen registriert werden sollen, die nicht mehr im Intervall der Eichkonzentrationen liegen. Inzwischen hat sich gezeigt, daß hier der Ansatz nach Nernst-Jacobi weiterhilft. (Weiterführende Arbeit Ulrike Wild.)

Die Elektroden haben sich nicht nur zur Analyse wässriger Lösungen, sondern auch von Eiweißlösungen und nativem Speichel bewährt.

Angesichts der biochemischen Aggressivität von Speichel war das nicht von vorneherein sicherzustellen gewesen, und es bleibt zu erwägen, ob Messungen an Submandibularispeichel nicht doch in definierter wässriger Verdünnung durchgeführt werden sollten.

Somit braucht die Methode nicht nur den Vergleich mit bisherigen Methoden nicht zu scheuen, sondern bietet Ansätze, deren Weiterentwicklung speichelchemische Untersuchungen wohl bald zur Routinediagnostik gehören lassen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wird ein Meßsystem entwickelt zur kontinuierlichen in-vivo Messung von Kationen im Speicheldrüsensekret.

Mittels zu Kanülen ausgezogenen Polyäthylenschläuchen werden die Speicheldrüsen katheterisiert. Durch den Sekretionsdruck wird der Speichel durch den Durchflußblock befördert, in dem die ionenselektiven Flüssigmembranelektroden eingebaut sind.

Nach Verlassen des Durchflußsystems wird das Sekret in Enzymtestpipetten zur Flußratenmessung aufgefangen. Das entstehende Potential der Flüssigmembranelektrode wird über Spannungsfolger einem Mikroprozessor zugeleitet, der alle 30 Sekunden Meßwerte ausdruckt. Der Mikroprozessor übernimmt außer der Registrierung der Meßwerte und deren Protokollierung auch die Auswertung. Anhand von Kontrolleichungen vor und nach der Messung werden Drift- und Offsetkorrekturen vorgenommen. Die Meßwerte können mit Zeitangabe ausgedruckt oder auch in Abhängigkeit von der Zeit graphisch dargestellt werden. Ausführlich wird die Kurz-, Langzeit- und Temperaturstabilität, Kalibrierbarkeit und chemische Widerstandsfähigkeit untersucht.

Trotz einiger Probleme, insbesondere mit den Elektrodenmembranen, erscheint das Meßsystem für die Messung von Speichелеlektrolyten geeignet.

Die Brauchbarkeit der Apparatur wird an wässrigen Lösungen, in-vitro Speichelanalysen und in-vivo Messungen an gesunden und einigen spezifisch erkrankten Personen aufgezeigt.

LITERATURVERZEICHNIS

BENDER, S.W., CONRAD, H.Chr., BIENER, G.:
Screening auf Mucoviscidose,
Mschr. Kinderheilk., 119. Bd., Heft 12 (1971)
632 - 637

BRANDS, Theo:
Diagnose und Klinik der Erkrankungen der großen
Kopfspeicheldrüsen,
Urban & Schwarzenberg Verlag (1972)

BUMM, P., BERG, M., TIEDTKE, M.:
Speichelchemische Untersuchungen der Submandibularis-
drüsen bei Facialisparesen,
Arch. Otorhinolaryngol. (1980) 226, 269 - 278

CAMMAN, Karl:
Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden,
Springer Verlag (1977)

EICHNER, MÜNDEL, M., BRETZEL, G.:
Vergleichende Untersuchungen von Flußraten, Elektrolyt-
und Gesamteiweißkonzentrationen und
diskelektrophoretische Auftrennung des Sekretes an
fraktioniert gewonnenem menschlichen Parotissekret,
Sonderdruck Laryngologie, Rhinologie, Otologie, 54,
(1975) 19 -27

GRANDEL, H.:
Speichelchemische Befunde bei akutem Hörsturz,
Dissertation, Erlangen (1980)

HEILAND, KREUSSER, HENNEMANN, KNAUF, WIGAND:

Excretion of the Mono- and Divalent Ions in Relation to Flow Rate in Bartter's and Pseudo-Bartter's Syndrom in Parotid Saliva. Comparative Studies to the Syndrom of Conn,

Klin. Wschr. 50, (1972) 959 - 966

KNAUF, H., FRÖMTER, E.:

Die Kationenausscheidung der großen Speicheldrüsen des Menschen,

Pflügers Archiv 316, (1970) 213 - 237

KREUSSER, W. et al.:

Mono- and Divalent Electrolyte Patterns, $p\text{CO}_2$ and pH in Relation to Flow Rate in Normal Human Parotid Saliva,

Europ. J. Clin. Invest., No. 6, (1972) 398 - 406

KREUSSER, HEIDLAND, HENNEMANN, KNAUF, WIGAND:

Speichелелектроlyte und Flußrate bei terminaler Niereninsuffizienz,

Arch. Klin. exp. Ohr-, Nasen- und Kehlkopfheilkunde 199, (1971) 614 - 619

KREUSSER, HEIDLAND, HENNEMANN, KNAUF, WIGAND:

Die Speichelchemie beim primären Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom),

Arch. Klin. exp. Ohr-, Nasen- und Kehlkopfheilkunde 202, (1972) 430 - 434

MAY, MARK, HARVEY,:

Salivary Flow: A prognostic test for facial paralysis, The Laryngoscope Vol. LXXXI, February 1971, 179 - 192

MAIER, H., CORONEO, M.T., ANONCYCYK, G., SCHINDLER, H.G., HEIDLAND, A.:

Alterations in Ionized and total Calcium Concentrations in Parotid Saliva in Patients with Essentiell Hypertension, BAG, MEM Maier 85 (1979)

MEIER, P.C., AMMAN, D., OSSWALD, H.F., SIMON, W.:
Review: Ionselective Elektrodes in Clinical Chemistry, Medical Progress through Technology 5, (1977), 1 - 12

MÜNZEL, M.:

Biochemie der menschlichen Speicheldrüsensekrete, Arch. Klin. Ohr-, Nasen- und Kehlkopfheilkunde 213, (1976)

PEUKER, L.:

Speichelchemische Befunde bei Morbus Menière
Dissertation, Erlangen (1979)

PROESCHER, H.J.:

Immunglobuline und Elektrolyte im Parotisspeichel von Sialadenose-Patienten, HNO 23, (1975) 68 - 71

RAUCH, S., KHAKSAR, A.:

Prüfung der Speicheldrüsenfunktion, HNO, 14. Bd., Heft 4, (1966) 120 - 121

SCHINDLER, J.G.:

Ionenselektives und Elektrochemisch-enzymatisches Multimeßsystem mit Diskelektroden und neutralen Carriern zur Intensivmedizinischen Elektroanalytik, Institut für Angewandte Physiologie d. Philipps-Universität Marburg/Lahn (1977) Habil. Schrift

SCHINDLER, J.G., RIEMANN, W.:

Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin, Koordinierte Forschung,
Institut für Angewandte Physiologie d. Philipps-Universität Marburg/Lahn, Dr. E. Fresenius
Chemischpharmazeutische Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg, V.D.H. (1977)

SCHINDLER, DENNHARDT, SIMON:

Kontinuierliche ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessungen am Menschen.
Hämoanalyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose
Chimia 31, Nr. 10, (1977) 404 - 407

SCHINDLER, MAIER, HEIDLAND, JAROS, AZIZ, STEFFEN:

Kationenselektive Sialoelektroanalytik von Parotis und Pankreas mit Carrier-Membran-Disk-Elektroden

SCHINDLER, DÜRR, RIEMANN, BRAUN, KELLNER:

Ionenselektive Diskelektroden mit neutralen Kationen Carriern für die automatisierte Elektroanalyse des Serums,
Biomedizinische Technik, Band 23, Heft 3, (1978),
45 - 47

SCHINDLER, STORK, STRÜH, SCHMID, KARASCHINSKI:

Zur Funktionsweise der inneren Festableitung ionenselektiver Diskelektroden I,
Fresenius, Z. f. Analyt. Chem. 295, (1979), 248 -251

SCHINDLER, J. G.:

Forschungsbericht, Meßtechnik in der Medizin,
Förderungskennzeichen MMT 06: Ionenselektive Diskelektroden und coated Glass-Elektroden,
Institut für angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn, (1979)

Herr Prof. Wigand hat durch sein Interesse den Fortgang der wissenschaftlichen Untersuchungen sehr gefördert und die Durchführung ermöglicht.

Herr Dr. rer. nat. Berg setzte sich in selbstloser Weise dafür ein, daß die Arbeit vollendet werden konnte. Seine Hinweise trugen zur Lösung vieler Probleme bei, außerdem war er stets bereit, selbst mit Hand anzulegen, wenn dies notwendig erschien. Für diese Bereitschaft zur Hilfe und Diskussion möchte ich Ihm herzlich danken.

Die Anregung des Themas, die Beschaffung der Durchflußblöcke und weiterer Materialien hat dankenswerterweise Herr Priv. Doz. Dr. Eitschberger veranlaßt.

Zur Behebung technischer Probleme setzte sich Herr Dipl. Ing. Kupka in aner kennenswerter Weise ein.

Herrn Prof. Dr. Simon möchte ich recht herzlich für die Überlassung der ionenselektiven PVC-Folien danken, die eine Überholung der Durchflußblöcke ermöglichten. Dabei waren die Ratschläge von Herrn Dr. rer. nat. Guggi unerläßlich.

Ein Dank auch an Frau Heubeck und Frau Ruff für ihre Mitarbeit.

Lebenslauf

Als Tochter des Landwirts Georg Müller und seiner Ehefrau, Frieda Müller, geb. Kapp, wurde ich am 11.03.1956 in Altdorf bei Nürnberg geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Volksschule in Rasch, danach den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des Leibniz-Gymnasiums in Altdorf, wo ich 1975 das Abitur ablegte.

Das Medizinstudium begann ich im Sommersemester 1976 an der Medizinischen Fakultät der Universität Erlangen, legte dort im März 1978 die Ärztliche Vorprüfung, im März 1979 den Ersten Teil und im März 1981 den Zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung ab.

Die Ausbildung im Praktischen Jahr erfolgte in der Chirurgie am Lehrkrankenhaus Amberg, in Innerer Medizin an der 4. Medizinischen Klinik der Städt. Krankenanstalten Nürnberg und im Wahlfach Kinderheilkunde an der Universitäts-Kinderklinik Erlangen.

Im April 1982 absolvierte ich den Dritten Teil der Ärztlichen Prüfung.

Seit September 1982 bin ich als Assistenzarzt der Anästhesie in der Orthopädischen Klinik Wichernhaus in Rummelsberg tätig.

